Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik C der
Universität Düsseldorf
(Direktor: Prof. Dr. H.L. Krüskemper)

SERUM - PARATHORMON BEI TERMINALER NIERENINSUFFIZIENZ
EIN SINNVOLLER PARAMETER ?

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
Der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf
vorgelegt von
Hanns Jürg Sachse
Düsseldorf 1983

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543926_0024

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik C der
Universität Düsseldorf
(Direktor: Prof. Dr. H.L. Krüskemper)

SERUM - PARATHORMON BEI TERMINALER NIERENINSUFFIZIENZ
EIN SINNVOLLER PARAMETER ?

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
Der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf
vorgelegt von

Hanns Jürg Sachse

Düsseldorf 1983

Gedruckt mit der Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

Der Dekan der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf :Prof.Dr.A.Hopf

Referent :Prof.Dr.R.Hehrmann

Korreferent :Prof.Dr.B.Grabensee

M e i n e n l i e b e n E l t e r n

Für das Zustandekommen dieser Arbeit bin ich zu besonderem Dank verpflichtet:

Prof.Dr.R. Hehrmann	für die Stellung des Themas und die vorzügliche Betreuung meiner Arbeit, vor allem die stete Bereitschaft zur Diskussion theoretischer und praktischer Fragen,
Prof.Dr.H.L.Krüskemper	für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes und die Überlassung des Patientengutes,
Prof.Dr.W. Schneider u. Prof.Dr.B. Grabensee	für die Auswahl des nephrologischen Patientengutes sowie der freundlichen Bereitstellung der Patientenunterlagen,
Prof.Dr.W. Rick	für die Überlassung der laborchemischen Daten,
Dr. van Endert, Dr. Saueressig und Dr. Tersteegen	für die ausgezeichnete Kooperation bei der Zusammenstellung des Patientengutes und die ausführliche Diskussion der Krankenverläufe,
Frau Dr.J.M. Zanelli	(NIBSC, London) für die Bereitstellung von (1-34)PTH,
Firma HENNING, Berlin,	für großzügige Überlassung der (44-68) - PTH - RIA - Kits,
Frau G. Müller	für die stets freundliche Unterstützung im Labor und
Herrn H. Buron	für die freundschaftliche Hilfe beim Anfertigen der Zeichnungen.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einführung	1
1.1 Niereninsuffizienz	1
1.2 Renale Osteopathie	2
1.3 Parathormon - Biochemie, Physiologie, Bestimmungsmethodik	5
1.3.1 Biochemie	5
1.3.1.1 Struktur	5
1.3.1.2 Synthese, Sekretion, Abbau	5
1.3.2 Physiologie - Regulation der PTH-Sekretion	9
1.3.3 Radioimmunologische PTH-Bestimmungsmethodik	11
1.4 Indikation zur PTH-Bestimmung	13
1.5 Ziel der eigenen Untersuchung	14
2. Material und Methoden	16
2.1 Material	16
2.1.1 Parathormon-Peptide zur Markierung mit ^{125}Jodid	16
2.1.2 Antiseren - Charakterisierung	16
2.1.3 Chemikalien	17
2.1.3.1 Radioimmunoassay, Chromatographie	17
2.1.3.2 Puffersubstanzen	18
2.1.4 Pufferlösungen	18
2.1.5 Geräte	20
2.2 Methoden	20
2.2.1 Radioimmunoassay (R I A)	20

Seite

2.2.1.1 Markierung der Testantigene (Tracer) 21

2.2.1.2 Nachreinigung des markierten Proteins 22

2.2.1.3 Nullserum 25

2.2.1.4 R I A-Testdurchführung 26

2.2.2 Chromatographie 32

2.2.3 Statistische Methoden 33

3. Ergebnisse 37

3.1 Basalwerte 37

3.1.1 Patientengut 37

3.1.2 Basalwertbestimmung des Serumparathormons 38

3.1.3 Laborparameter und röntgenologische Befunde 38

3.2 Korrelationen 46

3.2.1 PTH - Testsysteme 46

3.2.2 PTH - Basalwerte und Laborparameter Calcium, anorg. Phosphat und alk. Phosphatase 50

3.2.3 Röntgenbefunde - Labordaten 55

3.3 Ergebnisse in den Untergruppen 59

3.4 Prüfung der Unabhängigkeit der PTH - Basalwerte von der klinischen Beurteilung und Aluminium-hydroxyd-Dosis 63

3.5 Säulenchromatographie 66

3.5.1 Vorversuche 66

3.5.2 Eichung der Säule 67

3.5.3 Ergebnisse der Chromatographie 67

3.6 Nierentransplantation - Perioperative Verläufe 72

3.7 Assaystatistik 86

Seite

4. Diskussion 97

4.1 Methodik 98

4.1.1 Assaysysteme 98

4.1.2 Säulenchromatographie 99

4.2 Ergebnisse 100

4.2.1 Basalwerte 100

4.2.2 Korrelation der PTH - Basalwerte mit laborchemischen, röntgenologischen und klinischen Daten sowie medikamentöser Aluminiumhydroxydtherapie 102

4.2.3 Säulenchromatographie 106

4.2.4 Nierentransplantation - perioperativer Verlauf 107

5. Zusammenfassung 110

Anhang

Abkürzungen 112

Literatur 113

1. Einführung

Die Niere kann auf Grund ihrer zentralen Stellung als Ausscheidungs- und Regulationsorgan bei einer Funktionsminderung, d.h. einer Niereninsuffizienz, nicht isoliert betrachtet werden. Vielmehr müssen bei jeder Niereninsuffizienz auch die mit der Niere über Regulationsmechanismen in Verbindung stehenden Organsysteme auf ihre Funktion hin untersucht werden. In dieser Arbeit ist die durch die Niereninsuffizienz bedingte Störung des Calciumstoffwechsels von vorrangigem Interesse. Die unter 1.2 und 1.3 im Detail beschriebenen pathophysiologischen Vorgänge bei Niereninsuffizienz haben ein Ansteigen der Serum-Phosphat-Konzentration und eine Abnahme der Serum-Calcium-Konzentration zur Folge. Eine kompensatorische Erhöhung des Serum-Parathormonspiegels führt zu einer vermehrten Phosphatausscheidung und Calciumrückresorption in der Niere und wirkt damit dem gesunkenen Serum-Calciumspiegel bei Niereninsuffizienz entgegen. Im chronischen Verlauf einer Niereninsuffizienz entsteht so der sekundäre oder regulative Hyperparathyreoidismus, der Bestandteil des Krankheitsbildes der renalen Osteopathie ist, die eine gefürchtete Komplikation der Niereninsuffizienz darstellt.

1.1 Niereninsuffizienz

Der Begriff "Niereninsuffizienz" beschreibt die Unfähigkeit der Nieren, ihre Aufgabe als Ausscheidungs- und Regulationsorgan zu erfüllen. Im Gegensatz zum akuten Nierenversagen, bei dem sich das Bild der schweren Niereninsuffizienz innerhalb von wenigen Tagen entwickelt, entsteht die progrediente chronische Niereninsuffizienz über einen längeren Zeitraum. Es werden vier Stadien unterschieden:

1. Stadium der eingeschränkten Nierenfunktionsreserven ohne Retention der harnpflichtigen Stoffe,
2. Stadium der kompensierten Retention, in dem es zu einer leichten, aber konstanten Erhöhung der harnpflichtigen Stoffe im Serum kommt.
3. Stadium der dekompensierten Retention mit einer ansteigenden Konzentration der harnpflichtigen Stoffe im Serum und einer Störung des Elektrolyt-, Wasser-, Säure- und Basenhaushaltes; bei weiterer Progredienz mit Abnahme des Harnvolumens und zunehmender Reduktion des intakten Nierenparenchyms folgt
4. das Stadium der terminalen Niereninsuffizienz, die sich klinisch als urämisches Intoxikationssyndrom manifestiert.

Neben den vielen Krankheiten, die im Rahmen der Urämie auftreten können, imponieren vor allen die u r ä m i s c h e A n ä m i e und die r e n a l e O s t e o p a t h i e, die beide schon im Stadium der kompensierten Retention nachweisbar sind.

1.2 Renale Osteopathie

Unter dem Begriff "renale Osteopathie" versteht man Knochenveränderungen, die sich aus Osteomalazie (=Mineralisationsstörung), Fibroosteoklasie (Auswirkung vermehrter PTH-Wirkung = sek. Hyperparathyreoidismus) und Osteoporose/Osteopenie zusammensetzen (Delling, 1975). Daneben können extraossäre Verkalkungen auftreten, die sich vor allem als Mediaverkalkung der Gefäße und seltener als Weichteilverkalkung darstellen. Diese schon im Anfangsstadium der Niereninsuffizienz beginnenden Veränderungen nehmen im terminalen Stadium sowohl bei nicht dialysierten

als auch bei dialysierten Patienten an Häufigkeit und Schwere zu und zwar in Abhängigkeit von der Dauer der chronischen Niereninsuffizienz und der Art der Dialyse.

An der Entwicklung der renalen Osteopathie sind vor allem zwei Mechanismen beteiligt, die entscheidend in die Regulation des Calciumstoffwechsels eingreifen (Übersicht in Kröpelin et al., 1976 und Ritz et al., 1979):

(a) der sekundäre oder regulative Hyperparathyreoidismus
(b) der Mangel an 1,25-$(OH)_2$-Vitamin D_3

ad (a): Den wesentlichen Stimulus für die Steigerung der PTH-Sekretion stellt nach heutigem Wissensstand die Hypocalcämie dar (Johnson et al., 1974). Nach der Theorie des Phosphatstaus ("trade-off"-Hypothese (Bricker, 1972)) kommt es bei Niereninsuffizienten zu einer zunehmenden Einschränkung des Glomerulusfiltrates und damit zu einer Phosphatretention. Die erhöhte Phosphatkonzentration im Blut führt zu einer verstärkten Bildung von Calciumphosphaten und zu einer verminderten Wirkung von PTH am Knochen (partielle PTH-Resistenz). Die so resultierende Hypocalcämie bedingt eine regulative PTH-Sekretionssteigerung, die in der Niere unter cAMP-Vermittlung die Phosphatretention vermindert und so den Phosphatspiegel zu normalisieren versucht. Gleichzeitig wird durch die physiologischen PTH-Wirkungen am Knochen (Osteolyse) und - vermutlich nur indirekt über das Vitamin D - am Darm (vermehrte Calciumabsorption) der Calciumspiegel in den Normbereich gebracht. Die gesteigerte PTH-Wirkung am Knochen führt zu einem Skelettumbau im Sinne einer Fibroosteoklasie (sog. Ostitis fibrosa generalisata). In der Literatur werden jedoch auch Fälle beschrieben, die gegen die "trade-off"-Hypothese vor allem bei initialer Niereninsuffizienz sprechen (Übersicht in R. Hehrmann, 1980).

ad (b): Der aktive Metabolit des Vitamin D, das 1,25-$(OH)_2$-D_3 fördert die intestinale Calciumresorption. Das mit der Nahrung aufgenommene und durch eine photochemische Reaktion in der Haut entstandene Cholecalciferol wird in der Leber in das 25-(OH)-Cholecalciferol umgesetzt. In einem zweiten Schritt wird hieraus in der Niere der biologisch aktive Metabolit 1,25-$(OH)_2$-D_3 gebildet. Untersuchungen zeigten, daß die Aktivität des hierzu benötigten Enzyms, der 1-Hydroxylase, bei Niereninsuffizienz vermindert ist (De Luca, 1978). Der daraus resultierende Mangel an aktivem Vitamin-D_3 Metaboliten erklärt die schon bei initialer Niereninsuffizienz zu beobachtende verringerte intestinale Calciumabsorption. Daneben scheint bei Niereninsuffizienz auch ein vermindertes Ansprechen auf das 1,25-$(OH)_2$-D_3 am Knochen vorzuliegen, was sich in einer Mineralisationshemmung neugebildeter Knochenmatrix ausdrückt (Kröpelin et al., 1976).

Trotz der auf eine Hypocalcämie erfolgenden PTH-Sekretionssteigerung kann bei praeterminaler und terminaler Niereninsuffizienz ein normaler Calciumspiegel meist nicht aufrecht erhalten werden. Die Ursache hierfür ist noch nicht eindeutig geklärt, jedoch weisen verschiedene Untersuchungen auf eine Resistenz des Knochens auf die hypercalcämisc Wirkung des Parathormons hin (Übersicht in R. Hehrmann, 1980).

Somit entsteht die im Verlauf einer chronischen Niereninsuffizienz auftretende Hypocalcämie durch den Phosphatstau die PTH-Resistenz am Knochen und den Mangel von Vitamin 1,25-$(OH)_2$-D_3. Regulativ hierzu sind der sekundäre Hyperparathyreoidismus und die Mineralisationsstörung und damit die Knochenveränderungen im Sinne einer renalen Osteopathie erklärbar.

1.3 Parathormon - Biochemie, Physiologie, Bestimmungsmethodik

1.3.1 Biochemie

1.3.1.1 Struktur

Parathormon wird in den Glandulae parathyreoideae (Nebenschilddrüsen, Epithelkörperchen) gebildet. Es handelt sich um ein einkettiges Hormon aus 84 Aminosäuren. Für die Spezies Rind (bPTH) und Schwein (pPTH) wurde dessen Zusammensetzung (Brewer et al., 1970; Niall et al., 1970; Woodhead et al., 1971) und Sequenz beschrieben. 1978 konnten Keutmann et al. die Sequenz von humanem Parathormon (hPTH) aufklären. Die Unterschiede in den Parathormonsequenzen der verschiedenen Spezies zeigt die Abbildung 1 (aus Keutmann et al., 1978). hPTH unterscheidet sich demnach in je 11 Aminosäuren von bPTH und pPTH, wobei die Sequenzen 1-39 und 48-84 eine deutliche Konstanz zwischen allen drei Spezies erkennen lassen, während der Bereich von 40-47 sehr variabel ist. Je nach der Art der dreidimensionalen Anordnung des Moleküls können dadurch unterschiedliche Immunantworten bei der Immunisierung mit den verschiedenen PTH-Peptiden erhalten werden.

Nach allgemeiner Ansicht liegt der biologisch aktive Teil im amino-terminalen Bereich des Hormons, in der Sequenz 1-34 (Tregear et al., 1973), während Fragmente aus dem mittleren und carboxyl-terminalen Bereich biologisch inaktiv sind.

1.3.1.2 Synthese, Sekretion, Abbau

Untersuchungen über den Syntheseweg des PTH zeigten, daß das Hormon in der Nebenschilddrüse in Form zweier Vorstufen in der Zelle synthetisiert, jedoch in keiner dieser Formen in die Peripherie sezerniert wird (Habener et al., 1978; Kemper et al., 1972). Bei den Vorstufen handelt

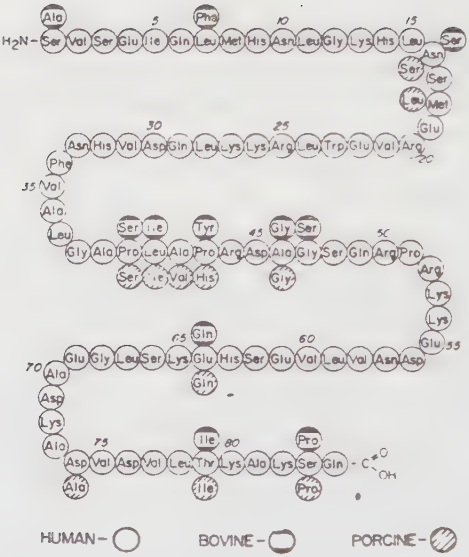


Abbildung 1: Vergleich der PTH-Aminosäuresequenzen der Spezies Mensch, Rind und Schwein
(aus: Keutmann et al., 1978)

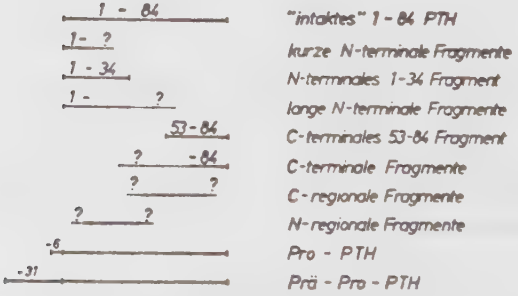


Abbildung 2: Schematische Übersicht über intaktes PTH, Vorstufen und Fragmente, die bei Synthese, Sekretion und Metabolismus eine physiologische Rolle spielen
(in Anlehnung an Hesch und Hehrmann, 1977)

es sich um das Pro-PTH (N-terminales PTH-Ende um 6 Aminosäuren verlängert) und um das Prä-Pro-PTH (N-terminales Ende des Pro-PTH nochmals um 25 Aminosäuren verlängert). In der Peripherie zirkulieren neben dem intakten Hormon mit einem Molekulargewicht von ca. 9500 Dalton auch eine Vielzahl von verschieden großen Fragmenten (Berson et al., 1968; Silverman et al., 1973):

(a) 6000-8000 Dalton	C-terminale Fragmente, biologisch inaktiv, relative hohe Serumkonzentration
(b) 4500-5000 Dalton	biologisch aktiv
(c) 2000-3000 Dalton	biologisch inaktiv, bei chronischer Niereninsuffizienz

Eine Übersicht über die große Heterogenität der Fragmente zeigt schematisch die Abbildung 2 (in Anlehnung an Hesch und Hehrmann, 1977).

Inwieweit die Nebenschilddrüse neben dem intakten Hormon auch Fragmente sezerniert, ist im Detail noch nicht aufgeklärt, für Patienten mit primären Hyperparathyreoidismus jedoch unzweifelhaft (Di Bella et al., 1978).

Nach PTH-Clearance-Untersuchungen bei Patienten mit Hyperparathyreoidismus erfolgt der Abbau des intakten PTH und seiner Fragmente zu etwa 44 % in der Leber, zu 34 % in der Niere und zu 16 % in den Extremitäten (Oldham et al., 1978). Entlang der Nierennephrone sind spezifische PTH-Rezeptoren vorhanden, die zusammen mit einem Adenylcyclasesystem und einer "PTH-ase" die enzymatische Inaktivierung und Degradierung durchführen (Jüppner et al., 1978). Dabei scheint die Abbaugeschwindigkeit von der biologischen Aktivität abzuhängen. So weisen bei normaler Nierenfunktion die biologisch aktiven amino-terminalen Fragmente

und das intakte Hormon eine kurze Halbwertszeit von fünf bis zehn Minuten auf. Nicht N-terminale und somit biologisch inaktive Fragmente zeigen dagegen eine Halbwertszeit bis zu mehreren Stunden. Bei gestörter Nierenfunktion ist vor allem die Plasmahalbwertszeit der Nicht-N-terminalen Fragmente deutlich verlängert (Silverman et al., 1973; Hesch et al., 1976). Das ist damit zu erklären, daß die bei Niereninsuffizienz auftretende Störung der renalen Ausscheidung des intakten Hormons durch einen enzymatischen Abbau in der Leber kompensiert werden kann. Die bei diesem Abbau entstehenden C-terminalen Fragmente können jedoch weder von der Leber noch von der insuffizienten Niere aus dem Blut eliminiert werden.

Nach Untersuchungen von Martin et al., 1977, erfolgt der Transport des biologisch aktiven Moleküls bzw. des Fragmentes (1-34) PTH in die Tubuluszellen der Niere über glomeruläre Filtration und über peritubuläre Aufnahme, so daß der in den Tubuluszellen zu beobachtende Abbau auch bei eingeschränkter Glomerulusfunktion möglich ist. Im Gegensatz dazu ist die glomeruläre Filtration der einzige renale Mechanismus, um biologisch inaktive C-terminale PTH-Fragmente aus der Zirkulation zu entfernen und sie nach Reabsorption in die Tubuluszelle abzubauen. Die hohe PTH-Konzentration bei chronischem Nierenversagen kommt zu ca. 80 % durch Akkumulation der biologisch inaktiven C-terminalen Fragmente und nur zu ca. 20 % durch Hypersekretion zustande (Freitag et al., 1978).

Somit besteht besonders bei der PTH-Bestimmung im Serum Niereninsuffizienter eine Problematik im Mißverhältnis zwischen der Konzentration biologisch aktiver und inaktiver PTH-Anteile. Trotz einer hohen Sekretionsrate liegen die biologisch aktiven Fragmente und das intakte Hormon

auf Grund der geringen Halbwertszeit in relativ niedrigen Konzentrationen vor. Dagegen reichern sich die inaktiven Fragmente besonders stark im Serum an.

1.3.2 Physiologie - Regulation der PTH-Sekretion

Die entscheidende Rolle bei der Regulation der Nebenschilddrüsenfunktion spielt die Serum-Calciumkonzentration. Über einen Feedbackmechanismus führen niedrige Konzentrationen ionisierten Calciums zu einer vermehrten, hohe Calciumkonzentrationen zu einer verminderten PTH-Sekretion. Ähnliche Wirkung konnte durch Magnesiumionen (Sherwood et al., 1976), nicht jedoch direkt durch Phosphationen erzielt werden. Die zunehmende Erkenntnis über die Interaktion zwischen PTH und Vitamin D legte einen direkten Hemmeffekt des aktiven 1,25-$(OH)_2$-D_3 Metaboliten auf die PTH-Sekretion nahe (Wilke et al., 1976). Die Hemmung des 1,25-$(OH)_2$-D_3 auf die Nebenschilddrüsenfunktion konnte inzwischen gezeigt werden (Dietel, 1978).

Die physiologischen Zielorgane des PTH sind Knochen, Nieren und Darm. Folgende physiologische PTH-Wirkungen sind heutzutage bekannt (Übersicht in Hehrmann, 1980):

(a) Am Knochen unterscheidet man verschiedene Effekte des Parathormons. Zum einen die osteoklastäre Wirkung, die in der PTH-bedingten Stimulierung der Differenzierung von sogenannten Osteoprogenitor-Zellen zu Osteoklasten zu sehen ist. Durch eine Steigerung der Osteoklastenzahl kommt es zu einer vermehrten Produktion von Säuren, lysosomalen Enzymen, Kollagenasen und Hylaronsäure und somit zu einer Steigerung des Knochenumsatzes. Die Wirkung des PTH wird offenbar durch das Calcium selbst vermittelt, indem die Membranleitfähigkeit der Knochenzelle für das Calcium erhöht wird (Parsons et al., 1971). Diese Effekte sind unabhängig von einem Adenyl-

cyclasesystem. Neben dieser osteoklastären Osteolyse existiert zum anderen eine osteocytäre Wirkung, bei der das PTH auf die tiefen Osteozyten wirkt und so das Calcium aus der stoffwechselaktiven Knochenzone mobilisiert. Dieser cAMP-abhängige Mechanismus führt zu einem frühen hypercalcämischen Effekt von PTH. Drittens wird durch die Stimulation von Oberflächenosteozyten, die den Calciumaustritt aus dem Knochen regulieren, ein langfristiger hypercalcämischer Effekt erklärbar, wie er beim primären Hyperparathyreoidismus zu beobachten ist. Ohne diesen Effekt würde es bei intakter Nierenfunktion durch die renalen Calciumverluste nicht zu einer anhaltenden Hypercalcämie kommen. Die beim Hyperparathyreoidismus zu beobachtende Dauerstimulation des Parathormons auf die Knochenzellen führt durch die verstärkte Aktivität von Osteoklasten und Osteozyten zu einem erhöhten Umbau von Knochengewebe. Der gleichzeitige Verlust von Calcium- und Phosphationen aus dem Knochenmineral vermindert die Stabilität des Knochens und erklärt die beschriebenen knochenpathologischen Folgekrankheiten des Hyperparathyreoidismus.

(b) Unter physiologischen Bedingungen bewirkt das PTH an der Niere eine Steigerung der Phosphatausscheidung durch verminderte tubuläre Rückresorption. Da der Phosphaturie eine gesteigerte Ausscheidung von cAMP vorausgeht, muß auch hier ein durch das Adenylcyclasesystem vermittelter Prozeß postuliert werden. PTH steigert außerdem die Ausscheidung von Natrium, Kalium, Bikarbonat und Aminosäuren. Durch verstärkte tubuläre Rückresorption werden dagegen die Plasmakonzentrationen von Calcium-, Magnesium-, Wasserstoff- und Ammoniumionen erhöht. Eine weitere Funktion des PTH bewirkt in den

Nierentubuli eine Aktivitätssteigerung der 1-Alpha-Hydroxylase. Sie steuert die Synthese des aktiven Vitamin D Metaboliten, 1,25-$(OH)_2$-D_3, der im Darm die entscheidende Rolle bei der Calciumabsorption spielt.

(c) PTH führt in der Darmzelle zu einer cAMP vermittelten Calciumabsorptionssteigerung. Bei Parathyreoidektomierten ist ein Abfall, bei Patienten mit einem primären Hyperparathyreoidismus dagegen ein Anstieg der Absorptionsrate festzustellen. Der wichtigste Induktor für die intestinale Calciumabsorption ist jedoch die oben angeführte aktive Form des Vitamin D. Dieser Metabolit induziert in der Darmschleimhaut die Synthese eines Calcium-bindenden Proteins, das für den Transport des Calciums aus dem Darmlumen in das Interstitium erforderlich ist (Wassermann et al., 1968). Nach neueren Untersuchungen muß jedoch bezweifelt werden, daß die Steigerung der Calciumabsorption überwiegend oder gar ausschließlich durch eine Erhöhung des Calcium-bindenden Proteins zustandekommt (Übersicht in De Luca, 1979).

1.3.3 Radioimmunologische PTH-Bestimmungsmethodik

Die heute gebräuchlichste Methode zur PTH-Bestimmung ist der Radioimmunoassay, der in seiner ersten Form von Berson et al. im Jahre 1963 publiziert wurde. Die Voraussetzung für die Anwendung eines radioimmunologischen Testsystems besteht in der Verwendung eines möglichst definierten und einheitlichen Antigenmaterials als Tracer und als Standard und von charakterisierten Antikörpern. Eine Hauptschwierigkeit lag in der Gewinnung ausreichender Mengen reinen PTHs, mit denen es möglich war, durch Immunisierung geeignete Antiseren zu gewinnen. Hierzu diente anfangs hauptsächlich Parathormon vom Rind und Schwein. Jedoch handelte

es sich bei der Immunisierung mit extrahiertem glandulärem Hormon nicht um definierte Moleküle, sondern um eine Mischung aus intaktem Hormon, Vorstufen und Fragmenten. Bei einem derartig zusammengesetzten "Immunogen" konnten natürlich nur sehr heterogene Antiseren erhalten werden. Erst die Verwendung hochgereinigter Substanzen führte zu Antiseren mit definierten Antikörperpopulationen. So wurden 1971 Antiseren gegen pPTH von Arnaud et al. und 1976 gegen pPTH von Hehrmann und Hesch (Hehrmann et al., 1976) gewonnen. Gegen humanes Parathormon existieren bislang nur Antiseren gegen synthetisierte Fragmente, wie z.B. die Fragmente (1-34) hPTH (Zanelli, 1980), (53-84) hPTH und (65-84) hPTH (Übersicht in Hehrmann, 1982) oder (44-68) hPTH (Atkinson, 1981). Radioimmunoassays gegen humane PTH-Fragmente sind heute also möglich. Solange synthetisches, reines i n t a k t e s Parathormon vom Mensch ((1-84)hPTH) noch nicht zur Verfügung steht, muß die Gewinnung von genügend hochgereinigtem intaktem hPTH aus Gewebekulturen von Nebenschilddrüsenadenomen und seine Verwendung als Immunogen als akzeptable Alternative angesehen werden (Hehrmann et al.,1973). Diese hPTH-Substanz hat sich auch als PTH-Referenzsubstanz bewährt. Bislang wurden gereinigte bPTH-Präparate verwandt, die jedoch auf Grund ihrer Heterogenität nicht mehr als optimal zu bezeichnen sind. Definierte und einheitliche hPTH-Präparate aus Gewebekulturen, z.B. "P_2 Hamburg" von Dorn eignen sich besser als Referenzstandard. Außerdem können sie mit biochemischen Methoden in gewünschte definierte PTH-Fragmente aufgetrennt werden (Dorn, 1979). Solange die Ergebnisse dieser Untersuchungen noch nicht vollends in der Praxis angewandt werden können, wird gegenwärtig weiterhin mit einem "heterologen Assaysystem" gearbeitet. Hierbei wird hochgereinigtes bPTH zur radioaktiven Markierung verwendet, da es eine Tyrosingruppe für die Jodkopplung enthält. Die Antiseren werden durch die Immunisierung mit bPTH und pPTH erhalten.

1.4 Indikationen zur PTH-Bestimmung

Die häufigste Indikation zur PTH-Bestimmung im Serum ist die Abklärung eines primären Hyperparathyreoidismus (pHPT). Das klinische Bild dieser Erkrankung ist durch eine ausgesprochene Vielzahl von Symptomen gekennzeichnet, was auf eine Beteiligung vieler Organsysteme hindeutet. Im Vordergrund stehen dabei ossäre und renale Verläufe mit Osteodystrophia fibrosa generalisata, Chondrocalcinose, Nephrolithiasis und Nephrocalcinose sowie Veränderungen im Sinne eines Hypercalcämiesyndroms. Die Bestimmung der Serum-Calcium- und Serum-PTH-Spiegel führt in den meisten Fällen zur Diagnose. Patienten mit einem pHPT haben zu 90 % eine Hypercalcämie, jedoch besteht bei nur 30 - 50 % aller hypercalcämischen Patienten die Ursache des erhöhten Calciumspiegels in einem Hyperparathyreoidismus mit erhöhten PTH-Konzentrationen. Häufigste Differentialdiagnose ist die sogenannte "Tumorhypercalcämie" mit erniedrigten PTH-Konzentrationen. Nach operativer Nebenschilddrüsenexstirpation läßt sich durch Kontrolluntersuchungen des PTHs die vollständige Entfernung des PTH-produzierenden Adenoms nachweisen. Wegen der großen Häufigkeit einer den pHPT begleitenden Hypertonie stellt auch die endokrinologische Abklärung der Hypertonie eine Indikation zur PTH-Bestimmung dar.

Bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz stellt die PTH-Bestimmung wegen der großen Komplikationsgefahr der renalen Osteopathie (s. 1.2) eine weitere wichtige Indikation dar. Verlaufskontrollen des PTH-Spiegels erlauben, den Effekt der therapeutischen Maßnahmen wie Diät, Medikamente und Dialyse festzustellen. Nach der oben beschriebenen Problematik scheint es jedoch fraglich, ob PTH-Messungen, die mit RIA-Testsystemen durchgeführt werden, die vor allem C-terminale Fragmente messen, für die Beurteilung

des renal bedingten sekundären Hyperparathyreoidismus geeignet sind. Das Hauptinteresse richtet sich auf die Bestimmung des biologisch aktiven Parathormons bei Niereninsuffizienz, d.h. (1-84) PTH, (1-34) PTH und N-terminale Fragmente mit einer längeren Sequenz als (1-34). Wegen der Kumulation von Mittel- und C-terminalen-Fragmenten ist der prozentuale Anteil von biologisch aktivem Hormon wegen seiner kurzen Halbwertszeit eher noch geringer als bei intakter Nierenfunktion. Der überwiegende Anteil des zirkulierenden immunreaktiven Parathormons bei Niereninsuffizienz muß daher biologisch inaktiv sein. In letzter Zeit besteht die Möglichkeit von sequenzspezifischen, d.h. an definierten Fragmenten orientierten Assays (Übersicht in Hehrmann, 1982).

1.5 Ziel der eigenen Untersuchungen

Im Rahmen dieser Arbeit soll untersucht werden, inwieweit heute mögliche PTH-Bestimmungen brauchbare Parameter für die Kontrolle chronisch niereninsuffizienter Patienten sind. Neben Assaysystemen, die wie bisher hauptsächlich mittelregionale und/oder C-terminale Fragmente messen, werden auch Systeme eingesetzt, deren Testantiseren eine hohe Affinität zu dem intakten Hormon aber auch zu N-regionalen (1-34) und mittelregionalen (44-68) Fragmenten haben.

Das zu untersuchende Patientengut setzt sich aus terminal niereninsuffizienten Patienten der nephrologischen Ambulanz der Medizinischen Klinik A der Universität Düsseldorf (Nierentransplantierte, CAPD-Patienten, hämodialysierte-, hämofiltrierte- und praeterminale Patienten), der endokrinologischen Ambulanz der Medizinischen Klinik C der Universität Düsseldorf (primärer und sekundärer Hyperparathyreoidismus) sowie einem großen Kollektiv von Hämodialysepatienten eines

Dialyseinstituts (Dr. van Endert/Dr. Saueressig/ Dr. Tersteegen) in Düsseldorf zusammen.

Ergänzend soll die chromatographische Auftrennung von Serumproben mittels der Gelfiltration zeigen, wie die Verteilung von PTH-Fragmenten im Serum von Dialysepflichtigen ist. Im Vergleich zu Seren von Patienten mit einem primären Hyperparathyreoidismus werden Seren von Patienten mit unterschiedlichen Dialysetechniken (Hämodialse und CAPD) chromatographiert und mit unterschiedlichen Assaysystemen untersucht, um den eventuellen Einfluß der Dialysetechnik auf die Konzentration einzelner PTH-Fragmente festzustellen.

2. Material und Methoden

2.1 Material

2.1.1 Parathormon-Peptide zur Markierung mit ^{125}Jodid

bPTH "highly purified" lot no.: 1508 B 004	INOLEX
(1-34) hPTH (synthetisch)	BACHEM
Standard: hPTH "$P_{2/3}$ Hamburg" (März 1977)	Referenzmaterial aus Gewebekultur menschlicher Nebenschilddrüsen
(1-34) hPTH	BACHEM
(44-68)-PTH-RIA-Kit	HENNING

2.1.2 Antiseren - Charakterisierung

Es standen Antiseren zur Verfügung, die gegen tierisches Parathormon (bPTH/pPTH) oder synthetisierte menschliche Hormonfragmente gerichtet waren.

S 469: Schafsantiserum gegen bPTH/pPTH-Gemisch (Hehrmann, 1980) Anti-C-regionales Serum mit höherer Affinität zur mittleren C-Region (44-68) als zum intakten Hormon.

S 478: Schafsantiserum gegen bPTH/pPTH-Gemisch (Hehrmann, 1980) Anti-C-regionales Serum mit hoher Affinität zum intakten hPTH und bPTH

S 22: Schafsantiserum gegen das synthetische Fragment (44-68) hPTH (Atkinson, 1981)
Das Serum erkennt das Fragment (44-68) hPTH sowie die intakten hPTH-Präparate "$P_{2/3}$ Hamburg" und 75/549 (1^{st} international reference preparation vom Medical Research Council, London); keine Kreuzreaktion mit N-terminalen (1-34) bzw. C-terminalen (53-84) Fragmenten.

Antiserum (44-68)hPTH (Henning; (AS(44-68)):

Entspricht dem Antiserum S 22

Antiserum (1-34)hPTH; (AS(1-34)):

Ziegenantiserum gegen das synthetische N-terminale (1-34)hPTH-Fragment
(Antiserum G 10/017, NIBSC 79/533 (Desplan et al., 1977; Zanelli et al., 1980))

Das Serum zeigt parallel verlaufende Bindungskurven mit dem synthetischen (1-34)hPTH-Fragment und mit verschiedenen nativen intakten (1-84)hPTH-Präparaten. Mit intaktem bPTH besteht eine abgeschwächte, mit den Fragmenten (44-68)hPTH und (53-84)hPTH keine Kreuzreaktion.

2.1.3 Chemikalien

2.1.3.1 Radioimmunoassay, Chromatographie

Chloramin T	MERCK
$Na_2S_2O_5$	MERCK
$Na^{125}J$	BEHRINGWERKE
Biogel P 10	BIO-RAD LABORATORIES
Sephadex G 50 fine	PHARMACIA
Whatman CF 1 Cellulose	WHATMAN
Nullserum	s.Kap. Methoden 2.2.1.3
Dextran T 70	PHARMACIA
Norit A Charcoal	SERVA

2.1.3.2 Puffersubstanzen

Na_2HPO_4 x 2 H_2O p.a.	MERCK
NaH_2PO_4 x 2 H_2O p.a.	MERCK
NaCl p.a.	MERCK
Eisessig 96 %	MERCK
NH_3 25 %	MERCK
HCl, 1N	MERCK
NaOH, 2N	MERCK
Na-Acetat	MERCK
Na-Barbital	MERCK
Humanserumalbulmin	BEHRINGWERKE
Trasylol	BAYER
2-Mercaptoäthanol	MERCK-SCHUCHARDT
Merthiolat	SERVA

2.1.4 Pufferlösungen

A. Phosphatpuffer 0,5 M,pH 7,5

a) 30,873 g Na_2HPO_4

b) 4,09 g NaH_2PO_4 ,ad 500 ml mit H_2O bidest.

pH-Einstellung mit HCl oder NaOH

B. Phosphatpuffer 0,01 M; NaCl 0,15 M,pH 7,8

a) 1,78 g Na_2HPO_4 ad 1 l H_2O bidest.

b) 0,69 g NaH_2PO_4 ad 0,5 l H_2O bidest.

c) 8,77 g NaCl

1 l von Lösung (a) und x ml von (b) bis pH=8,0. Davon 1 l und (c) :pH-Einstellung mit HCl oder NaOH

C. Ammoniumacetatpuffer pH 4,5, für Tracerherstellung

a) 100 ml 96 % Eisessig

b) 60 ml 25 % NH_3

c) 7,28 ml 2-Mercaptoäthanol

d) 1496 ml H_2O bidest.

pH-Einstellung mit HCl oder NaOH

D. Ammoniumacetatpuffer 0,1 M, pH 5.0 für Chromatographie

a) 12 ml 96 % Eisessig

b) 7,2 ml 25 % NH_3

c) 4 g HSA , ad 2000 ml mit H_2O bidest.

E. Na-Barbital-, Acetat-, Chlorid-Puffer, pH 7,4

a) 0,98 g Na-Barbital

b) 0,648 g Na-Acetat

c) 5,1 g NaCl

d) 0,2 g Merthiolat , ad 2000 ml mit H_2O bidest.

pH-Einstellung mit HCl oder NaOH

F. "Assay-Puffer-I" (für Testsysteme: S 22, S 469 und S 478)

a) 1000 ml Puffer (E)

b) 10 g HSA ,pH-Einstellung mit HCl oder NaOH

G. "Assay-Puffer-II" (für Testsystem AS(1-34)

0,05 M Barbitalpuffer, pH 8,6

a) 7,5 g Na-Barbital , pH mit HCl oder NaOH einstellen

b) 2 g HSA

(Fortsetzung nächste Seite)

c) 3,72 g EDTA

d) 0,1 g Merthiolat

e) 100 ml Nullserum ,ad 1000 ml H_2O bidest.

Bei der Verwendung des "Assaypuffer-II" als Serumverdünner für das Ziegen-Anti-(1-34)hPTH-Serum wird auf den Zusatz des Nullserums verzichtet.

H. "Trennungspuffer",pH 7,4 (für alle Charcoal-Trennungen)

a) 400 ml Puffer (E)

b) 10 g HSA ,pH-Einstellung mit HCL oder NaOH

2.1.5 Geräte

Fraktionssammler	:	Ultrarac II LKB (2070)
Pumpe	:	Microperpex Peristaltic Pump (2132) LKB
Gammacounter	:	Kontron MR 1032
Zentrifugen	:	Christ UJ 3
		Beckman LS - 50
		MSE "Coolspin"

2.2 Methoden

2.2.1 Radioimmunoassay (R I A)

Im Rahmen dieser Arbeit wurden verschiedene Assaysysteme eingesetzt. Beim Gebrauch der von Hehrmann entwickelten Antiseren S 22, S 469 und S 478 wurde das von ihm ausführlich beschriebene Testverfahren angewandt (Hehrmann, 198
Das N-terminale (1-34)PTH-Testsystem wurde nach der von

Zanelli (1980) beschriebenen Methode durchgeführt.
Der von der Fa. HENNING, Berlin, entwickelte und zur Verfügung gestellte "(44-68)PTH-RIA-Kit" wurde nach der beigefügten Versuchsanleitung bearbeitet.

2.2.1.1 Markierung der Testantigene (Tracer)

Das intakte Parathormon (1-84)bPTH und das Fragment (1-34)hPTH wurden nach der von Hunter und Greenwood (1962) beschriebenen "Chloramin T-Methode" mit radioaktivem ^{125}Jodid markiert.

	(1-84)bPTH	(1-34)hPTH
Reaktionsansatz	10/ug (1-84)bPTH	2/ug (1-34)hPTH
	10/ul 0,01 N CH_3COOH	20/ul 0,1 N CH_3COOH
	0,5 mCi $Na^{125}J$ in	1,0 mCi $Na^{125}J$ in
	5/ul 0,5 M PP,pH 7,5	5/ul 0,5 M PP,pH 7,5
Reaktionsstart	25/ug Chloramin T in	53,2/ug Chloramin T in
	10/ul 0,01 M PP,pH7,8	20/ul 0,2 M PP,pH 7,5
Reaktionszeit	20 - 30 S e k u n d e n	
Reaktionsstop	125/ug $Na_2S_2O_5$ in	180/ug $Na_2S_2O_5$ in
	100/ul0,01 M PP,pH 7,8	50/ul 0,2 M PP,pH 7,5

Zur Trennung des Tracers vom ungebundenen ^{125}Jod wurde das Reaktionsgemisch auf eine mit trockener Whatman CF 1 Cellulose gefüllte Säule (Pasteurpipette 3,5 cm hoch gestopft) aufgetragen. Dabei wird das Tracerprotein von der Cellulose adsorbiert.

Zur Abtrennung des ungebundenen ^{125}Jod wurde achtmal mit je 0,5 ml Na-Barbital-, Acetat-, Chlorid-Puffer, pH 7,8 eluiert und acht Fraktionen gesammelt. Das an die Cellulose gebundene Protein wurde durch Proteinüberschuß (8 x 0,5 ml Nullserum) eluiert und ebenfalls fraktioniert gesammelt. Alle Fraktionen (1-16) wurden im ^{125}J-Kanal gemessen und die Fraktionen mit den höchsten radiologischen Aktivitäten (üblicherweise Nr. 10 und 11) zur weiteren Reinigung vereint (Abbildung 3). Die Markierung und anschließende Trennung des Reaktionsansatzes erfolgten bei Raumtemperatur unter einem Abzug.

2.2.1.2 Nachreinigung des markierten Proteins

Die Fraktionen mit den höchsten Radioaktivitäten wurden vereint und zur weiteren Reinigung bei 4°C auf eine Biogel P 10-Säule (2,5 cm x 30 cm) aufgetragen und mit Ammoniumacetatpuffer, pH 4,5 eluiert. Fraktionen von je 1,6 ml wurden gesammelt und das ^{125}J im ^{125}J-Probenwechsler gemessen. Diese Elution ergab zwei Radioaktivitätsmaxima (Peak). Entsprechend früheren Untersuchungen (Hehrmann et al. 1976) handelte es sich hierbei um einen Vorpeak, der im "RIA" eine hohe unspezifische und niedrige spezifische Bindung zeigte und einen darauf folgenden Hauptpeak mit einer hohen spezifischen und niedrigen unspezifischen Bindung (Abbildung 4). Die Fraktionen dieses Hauptpeaks wurden gesammelt und in 200 µl Aliquots eingefroren.

Zur weiteren Verwendung im Test wurde das ^{125}J-bPTH mit "Assaypuffer-I" auf die geeignete Konzentration (ca. 5000 cpm/100 µl) verdünnt.

Während der ^{125}J-bPTH-Tracer über mehrere Wochen unverändert gebraucht werden konnte, mußte der ^{125}J-(1-34)hPTH-Tracer

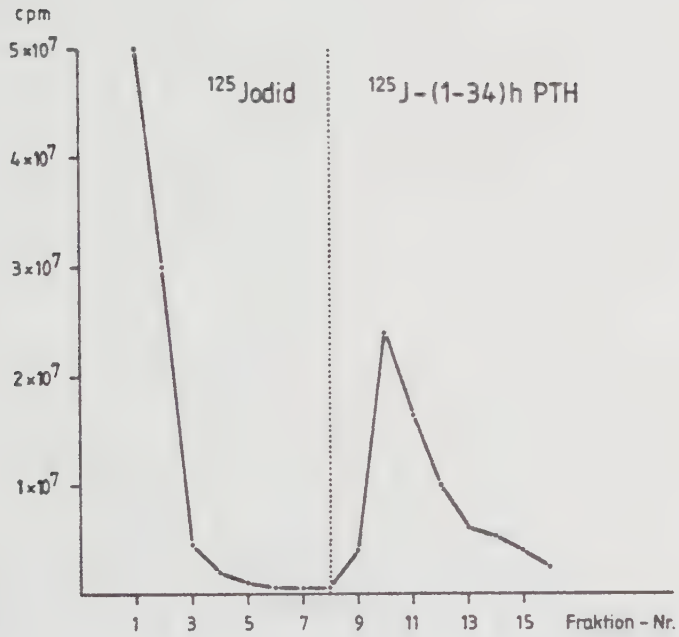


Abbildung 3: Tracerherstellung (Beispiel ^{125}J -(1-34)hPTH)
Whatman - CF 1 - Cellulose Chromatographiesäule
Fraktionen 1-8: Elution mit Na-Barbital-Acetat-Chlorid-Puffer
Fraktionen 9-16: Elution mit Nullserum

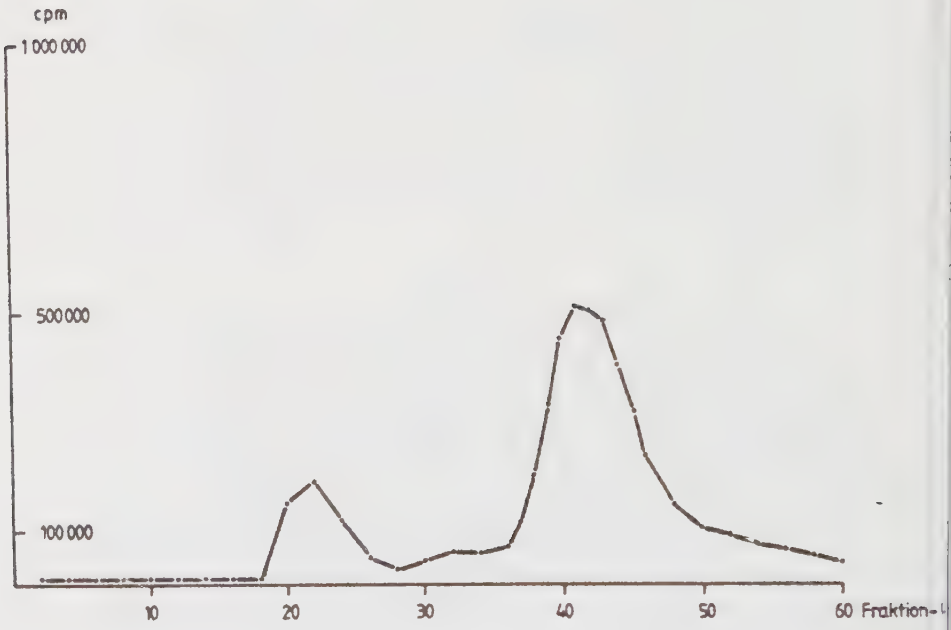


Abbildung 4: Nachreinigung des ^{125}J - (1-34)hPTH - Tracers über Biogel - P 10 - Chromatographiesäule

vor jedem Test über eine kleine Biogel P 10-Säule (1 cm x 10 cm) von abgespaltenem ^{125}Jodid gereinigt werden. Bei der Elution eines aufgetragenen Traceraliquots mit 0,05 M Barbitalpuffer, pH 8,6 (mit 0,2 % Nullserum) ergab sich ein großer Hauptpeak, der das markierte Protein enthielt, und einen sich anschließenden kleinen Nachpeak mit abgespaltenem ^{125}Jodid. Das im Hauptpeak eluierte markierte Protein wurde mit "Assaypuffer-II" geeignet verdünnt (5000 cpm/100 µl) und im Test eingesetzt.

2.2.1.3 Nullserum

Zur Verdünnung der Standards auf die erforderlichen Konzentrationen der Standardverdünnungsreihen und zur Bestimmung der unspezifischen Bindung (U_B) bzw. maximalen Bindung (B_o) wird ein PTH-freies Serum (=Nullserum) benötigt. Die wichtigsten Qualitätskriterien des Nullserums sollen ein nahezu normaler Proteingehalt, eine geringe unspezifische Bindung und eine minimale hemmende Wirkung auf die zu untersuchende Reaktion zwischen markierten Antigen und Antikörper, d.h. eine maximale Bindung im "RIA", sein. Im Rahmen dieser Arbeit wurde das Verfahren der Antigenextraktion mit Aktivkohle angewandt (Hehrmann, 1980).

Zur Extraktion stand ein Liter Misch-Serum von Patienten - ohne Verdacht auf einen erhöhten Serumparathormonspiegel - zur Verfügung, das im Zentrallabor der Medizinischen Kliniken C - E gesammelt wurde. 100 g Aktivkohle wurden in 500 ml 4%iger Humanalbuminlösung suspendiert und eine Stunde auf dem Magnetrührer gemischt. Danach wurde abzentrifugiert (2000 rpm, 10 Min.), der Überstand dekantiert, das Sediment mit 1000 ml gesammelten Patientenserum suspendiert, eine halbe Stunde bei 4°C gerührt und anschließend ca. 15 Stunden stehengelassen (4°C). Nach dieser Zeit wurde die Suspension für 10 Min. bei 1000 rpm zentrifugiert und der Überstand noch zweimal in der Ultrazentrifuge bei

20000 rpm von restlicher Aktivkohle gereinigt. Zur weiteren Reinigung von feinsten Aktivkohlepartikeln wurde der Überstand durch einen Faltenfilter filtriert und das so gewonnene Material als PTH-Nullserum aliquotiert und eingefroren.

2.2.1.4 R I A - Testdurchführung

Tracer

Die Herstellung der Tracer ist in den Kapiteln 2.2.1.1 und 2.2.1.2 ausführlich dargestellt worden.

Antiseren

Die benutzten Antiseren sind in dem Kapitel 2.1.2 charakterisiert worden. Zur Anwendung im Test wurden sie mit dem "Assaypuffer-I" (S 22, S 469, S 478) oder "Assaypuffer-II" (AS(1-34)) folgendermaßen eingestellt:

	Vorverdünnung	Endverdünnung im Test
S 22	1 : 4000	1 : 7000
S 469	1 : 10000	1 : 17500
S 478	1 : 2000	1 : 3500
AS (1-34)	1 : 150000	1 : 600000

Die Antiseren wurden mit der Konzentration der Vorverdünnung im Test eingesetzt, was zu den angegebenen Endverdünnungen führte.

Standardpräparate

Zur Berechnung der PTH-Konzentrationen wurden in jedem Assay Verdünnungsreihen von PTH-Standardantigen gemessen.

(a) Bei Verwendung der Antiseren S 469, S 478 und S 22 wurde als Standard ein aus Gewebekulturen von mensch-

lichen Nebenschilddrüsen gewonnenes Präparat benutzt, die Charge "hPTH $P_{2/3}$ Hamburg (März 1977)" (Dorn et al., 1979). Die Anfangsverdünnung von 1:10 wurde mit Nullserum weiterverdünnt, so daß eine geeignete Verdünnungsreihe zwischen 1:50 (=2000/ul $P_{2/3}$/l) und 1:10000 (=10 ul $P_{2/3}$/l) hergestellt werden konnte.

(b) Im AS(1-34)PTH-Testsystem wurde die Verdünnungsreihe aus der auch zur Markierung verwandten Ausgangssubstanz (synthetisches (1-34)hPTH der Firma BACHEM) hergestellt. Hierzu wurden 0,5 mg (1-34)hPTH in 5 ml 0,1 M CH_3COOH gelöst und aliquotiert. Als Medium für die Verdünnungsreihe, deren Konzentration zwischen 10 ng/ml und 0,0195 ng/ml lag, diente der "Assaypuffer-II".

(c) Im (44-68)PTH-Testsystem wurde ein synthetisches (44-68)hPTH-Peptid als Standard benutzt. Der Konzentrationsbereich der Verdünnungsreihe lag zwischen 78 und 2500 pg (44-68)hPTH/ml.

Zur Meßung des Parathormonfragmentes (44-68)hPTH wurden Tracer, Antiserum und Standard sowie der zweite Antikörper zum Abtrennen des Antigen-Antikörperkomplexes des (44-68)hPTH-RIA-Kits der Firma HENNING verwendet.

Patientenseren

Nach der venösen Entnahme wurden die Blutproben für eine Stunde auf Eis gestellt, anschließend bei 1500 rpm (10 Min.) zentrifugiert und das gewonnene Serum bis zur Verwendung eingefroren.

Assayschema-Theorie

Die im "RIA" zu messende Reaktion zwischen markiertem Antigen und Antikörper wird durch den Zusatz von nicht-markierten Antigenen, die wie das markierte Antigen (Tracer) mit

dem Antikörper reagieren, vermindert. Das bedeutet, daß hohe Konzentrationen von nicht-markierten Antigenen - z.B. hohe Serumparathormonspiegel im Patientenblut - zu einer geringen Bindung zwischen Tracer und dem Antiserum führen und umgekehrt. Man kann daher mit einer Standardverdünnungsreihe, d.h. durch definierte Konzentrationen nicht-markierter Antigene, eine Standard- oder Eichkurve aufstellen, die die Beziehung zwischen der Konzentration der nicht-markierten Antigene und der prozentualen Bindung zwischen Antiserum und markierten Antigenen zeigt. Bei der Messung der Patientenseren ergeben sich prozentuale Bindungswerte, die sich mit Hilfe der Standardkurve in eine Konzentrationsangabe für das auszutestende Antigen (hier: Parathormon im Serum) umrechnen lassen.

Pipettierschema

(a) Messung in den Testsystemen S 22, S 469 und S 478

Probe	Nullserum	Antiserum-vorverdün.	Assay-puffer-I	^{125}J-bPTH 5000 cpm
U_B	50 µl	Ø	200 µl	100 µl
B_o	50 µl	200 µl	Ø	100 µl
Standards 1 - 8	50 µl Standard-verdünnung	200 µl	Ø	100 µl
Patienten-proben	50 µl Patienten-serum	200 µl	Ø	100 µl

Trennung mit Dextran beschichteter Aktivkohle

(b) Messung im Testsystem AS(1-34)

Probe	Nullserum	Antiserum-vorverdün.	Assay-puffer-II	^{125}J-(1-34)hPTH 5000 cpm
U_B	100/ul	Ø	200/ul	100/ul
B_o	100/ul	100/ul	100/ul	100/ul
Standards 1 - 10	100/ul Standard-verdünnung	100/ul	100/ul	100/ul
Patienten-proben	100/ul Patienten-serum	100/ul	100/ul	100/ul

Trennung mit Dextran beschichteter Aktivkohle

(c) Messung im Testsystem AS(44-68)

Probe	Nullserum	Antiserum-vorverdün.	H_2O	^{125}J-(44-68)hPTH 25000 cpm
U_B	50/ul	Ø	200/ul	100/ul
B_o	50/ul	200/ul	Ø	100/ul
Standards 1-6	50/ul Standard-verdünnung	200/ul	Ø	100/ul
Patienten-probe	50/ul Patienten-serum	200/ul	Ø	100/ul

Trennung mit der Doppelantikörpermethode

Inkubationsschema

Die Inkubationszeit des ersten Testschrittes (Nullserum, Standardverdünnung oder Patientenserum mit Assaypuffer I, II (oder H_2O) oder der Antiserumvorverdünnung) betrug für die

Testsysteme (S 22, S 469, S 478) : 24 h/4°C, für das
Testsystem (AS (1-34)) : 48 h/4°C und für das
Testsystem (AS (44-68)) : 16 h/4°C.

Nach der ersten Inkubationszeit wird zu allen Proben der Tracer gegeben. Die sich anschließende zweite Inkubationsphase dauerte in dem

Testsystem AS(44-68) : 4 h/4°C

und in den

Testsystemen (S 22, S 469, S 478, AS(1-34): 48 h/4°C.

Nach der zweiten Inkubationsphase erfolgte die Trennung von gebundenen (B) und freien (F) Antigenen.

Trennung und Auswertung

Die Trennung des ungebundenen Tracers von den Antigen-Antikörperkomplexen erfolgte mit zwei unterschiedlichen Methoden:

(a) mittels Dextran beschichteter Aktivkohle (Herbert et al., 1965)
(b) mittels Doppelantikörpermethode

ad (a):Das Prinzip besteht darin, daß die mit Dextran behandelte Aktivkohle das freie Parathormon bindet, während der Antigen-Antikörperkomplex in Lösung bleibt. Durch Abzentrifugation der Kohle bleibt somit gebundenes Antigen in Lösung (B=bound hormon) und freies Antigen im Sediment (F=free hormon).

Zur Herstellung des Aktivkohle-Trennungspuffers wurde 250 mg Dextran T 70 in 100 ml Na-Barbital-, Acetat-, Chlorid-Puffer

mit 2,5 % Humanserumalbumin resuspendiert und eine Stunde lang gerührt.

Zur Trennung wurde jede Probe nach der zweiten Inkubationsphase mit 2 ml dieser Suspension für 10 Min. inkubiert und dann 15 Min. bei 1500 rpm zentrifugiert (alle Schritte wurden bei 4°C ausgeführt). Danach wurde der Überstand abdekantiert und der Überstand (B) und das Sediment (F) im ^{125}Jod-Kanal gemessen.

Auswertung: Die Berechnung der unspezifischen Bindung (U_B) wurde mit den entsprechenden Kontrollwerten durchgeführt:

$$U_B = B_{(U_B)} \; / \; (F_{(U_B)} + B_{(U_B)})$$

Die spezifische Bindung jedes Standard- bzw. Patientenserums (x) wurde unter Berücksichtigung der unspezifischen Bindung U_B nach folgender Formel berechnet:

$$\frac{B_{(x)} - (B_{(x)} + F_{(x)}) \cdot U_B}{F_{(x)}} = \text{spez. Bindung der Probe (x)}$$

ad (b): Mit Hilfe eines Antiserums (z.B. Anti-Schaf-Gammaglobulin vom Kaninchen), das gegen das Testantiserum (vom Schaf) gerichtet ist, kann der gebildete Antigen-Antikörperkomplex (B) präzipitiert und durch Zentrifugation vom freien Antigen (F) getrennt werden. Hierzu gibt man nach der zweiten Inkubationsphase 100/ul präzipitierendes Antiserum in jede Probe und inkubiert eine halbe Stunde bei 4°C. Danach gibt man 1 ml H_2O hinzu, zentrifugiert für 10 Min. bei 1500 rpm und saugt den Überstand bis ca. 3 mm (= 100/ul) oberhalb des Röhrchenbodens ab. Dieser Waschvorgang wird nochmals wiederholt und anschließend das Sediment (B) im ^{125}-Jod-Kanal gemessen. Nach Abzug der unspezifischen Bindung U_B wird von jeder Probe (x) die Rela-

tion zur maximalen Bindung (B_o) gebildet.

$$\frac{B_{(x)} - U_B}{B_o} = \text{spezifische Bindung der Probe (x)}$$

2.2.2 Chromatographie

Die chromatographische Auftrennung von Patientenseren erfolgte über eine Sephadex G 50-fine Säule (Maße: 2,5 cm x 25 cm). Hierzu wurden 2 ml Serum aufgetragen, mit 0,1 M Ammoniumacetatpuffer pH 5,0 eluiert und in 50 Fraktionen von je 3 ml gesammelt. Die einzelnen Fraktionen wurden mit je 0,3 ml 1 M NaOH neutralisiert und bis zum Austesten eingefroren.

Die Eluate wurden in drei verschienen Assaysystemen (Tracer/Antiserum) ausgetestet:

(1) ^{125}J-bPTH und S 22

(2) ^{125}J-(1-34)hPTH und AS(1-34)

(3) ^{125}J-(44-68)hPTH und AS(44-68)

Die Testdurchführung erfolgte wie oben (Kap. 2.2.1.4) beschrieben, jedoch mit den folgenden Änderungen, die die bei der Chromatographie erfolgende Verdünnung des Serums berücksichtigte:

In den Testsystemen S 22 und AS(1-34) wurden 200/ul statt 100/ul Testsubstanz (Eluat), und im Testsystem AS(44-68) wurden 100/ul statt 50/ul Testsubstanz eingesetzt.
Ausgetestet wurden die Fraktionen Nr. 16 bis Nr. 45 jedes Chromatographielaufes.

Die Eichung der Säule erfolgte getrennt mit den markierten Antigenen ^{125}J-bPTH, ^{125}J-(1-34)hPTH und ^{125}J-(44-68)hPTH, sowie mit Dextran Blue (Ausschlußvolumen, V_o) und Cytochrom C.

2.2.3 Statistische Methoden

Als Hilfsmittel für die statistischen Berechnungen diente ein Taschenrechner des Typs "CASIO fx-360", der mit festen Programmen für die Berechnung der Mittelwerte, Standardabweichung und Korrelation ausgestattet ist.
Folgende Formeln kamen zur Anwendung:

1) Mittelwert $$\bar{x} = \frac{\Sigma x}{n}$$

2) Standardabweichung $$S = \sqrt{\frac{x^2 - \frac{(\Sigma x)^2}{n}}{n - 1}}$$

3) Korrelation

lineare Regression $y = A + Bx$

Korrelationskoeffizient

$$r = \frac{n \cdot \Sigma x \cdot y - \Sigma x \cdot \Sigma y}{\sqrt{\left[n \Sigma x^2 - (\Sigma x)^2\right] \cdot \left[n \Sigma y^2 - (\Sigma y)^2\right]}}$$

(Mittenecker, 1966)

4) Signifikanzprüfung

(a) Die Signifikanzprüfung von Mittelwertunterschieden wurde mit dem t-Test nach Student für unverbundene 2-Stichprobentests durchgeführt:

$$t = \sqrt{\frac{n_1 \cdot n_2 \, (n_1 + n_2 - 2)}{n_1 + n_2}} \cdot \frac{\bar{x} - \bar{y}}{\sqrt{(n_1 - 1)\, S_1^2 + (n_2 - 1) S_2^2}}$$

bzw., bei gleichem Stichprobenumfang

$$t = \sqrt{n} \, \frac{\bar{x} - \bar{y}}{\sqrt{S_1^2 + S_2^2}}$$

(Kollegium Biomathematik NW, 1976)

(b) Die Signifikanz von Korrelationen wurde ebenfalls mit dem t-Test überprüft

$$t = \frac{r}{\sqrt{1 - r^2}} \sqrt{N - 2} \qquad \text{(Mittenecker, 1976)}$$

Die verwendeten t-Test-Tafeln entstammen dem Buch des Kollegium Biomathematik NW. 1976.

5) Assaystatistik

(a) Interassayvarianz

Für jedes Testsystem wurde eine Interassayvarianz berechnet, indem für jeden Standardpunkt (B/B_o) ein Mittelwert und eine Standardabweichung aus der Summe aller Versuche errechnet wurden.

Die Streuung berechnet sich nach der Formel von Payne, 1972:

$$SD = \sqrt{\frac{D^2}{2N}} \quad (\%B/B_o)$$

(b) Intraassayvarianz

Die Intraassayvarianz für Doppelbestimmungen wurde ebenso nach der Gleichung von Payne (1972) ermittelt.

Hiermit läßt sich die Varianz zwischen allen Meßwerten und Standardpunkten eines Assays, aber auch die Streuung eines Standardpunktes verschiedener Assays eines Testsystems berechnen.

(c) Mit der Formel $VK = \frac{SD \cdot 100}{\bar{x}}$ (%) läßt sich der Variationskoeffizient (VK) von mehrfach bestimmten Standardpunkten berechnen.

6) Test auf Unabhängigkeit zweier Merkmale (Kollegium Biomathematikum NW, 1976)
Zur Untersuchung der Unabhängigkeit zweier Merkmale diente der X^2-Test. Nach Aufstellung der Nullhypothese ("Die Merkmale A und B sind unabhängig") und der Alternativhypothese ("Die Merkmale A und B sind abhängig") wird die Prüfgröße X^2 bestimmt:

$$X^2 = \sum_{j=1}^{e} \sum_{i=1}^{k} \frac{(n_{ij} - n^*_{ij})^2}{n^*_{ij}}$$

n_{ij} : absolute Häufigkeit, mit der die Kombinationen der Ausprägung A_i und B_j der Merkmale A (Stichprobenumfang: i=1,2,3...k) und B (j=1,2,3...l) beobachtet werden.

n^*_{ij} : Aus den Stichproben geschätzte Häufigkeit (Erwartungswert), mit der die Kombinationen der Ausprägung A_i und B_j der Merkmale A und B beobachtet werden.

$$n^*_{ij} = \frac{n_{i\cdot} \cdot n_{j\cdot}}{n}$$

$n_{i\cdot}$ (bzw. $n_{\cdot j}$):
Absolute Häufigkeit der Ausprägung A_i (bzw. B_j) -

ohne Berücksichtigung der Ausprägung des Merkmales B (bzw. A) durch Addition der absoluten Häufigkeit der i-ten (bzw. j-ten) Zeile einer Kontingenztafel

$$n_{i.} = \sum_{j=1}^{l} n_{ij} = n_{i1} + n_{i2} + \ldots + n_{il}$$

$$n_{.j} = \sum_{i=1}^{k} n_{ij} = n_{1j} + n_{2j} + \ldots + n_{kj}$$

n : gesamter Stichprobenumfang $\left(n = \sum_{j=1}^{e} n_{i.} = \sum_{i=1}^{k} n_{.j}\right)$

Die berechnete Prüfgröße wird mit dem tabellierten Quantil $X^2_{f;\ 1-\alpha}$ verglichen (Freiheitsgrade f: (k-1) (l-1)). Ist die Prüfgröße kleiner als das Quantil, so kann die Nullhypothese nicht verworfen werden.

3. Ergebnisse

3.1 Basalwerte

3.1.1 Patientengut

A In Zusammenarbeit mit der Medizinischen Klinik A der Universität Düsseldorf (Prof. Dr. Schneider), Dialyseabteilung (Prof.Dr. Grabensee) wurden 29 Patienten untersucht, sich im terminalen Stadium der Niereninsuffizienz befanden. Abhängig von der durchgeführten Therapie wurde das Patientengut in folgende Gruppen eingeteilt: (a) Hämodialyse (4 Patienten), (b) Hämofiltration (4), (c) chronisch ambulante Peritonealdialyse (CAPD) (8), (d) Nierentransplantation (6). Eine weitere Gruppe bestand aus Patienten, die sich im praeterminalen Stadium der Niereninsuffizienz (7 Patienten) befanden und bis zum Zeitpunkt der hier durchgeführten Untersuchung noch nicht dialysiert waren.

B Aus dem Patientengut der Medizinischen Klinik C der Universität Düsseldorf (Prof. Dr. Krüskemper), Endokrinologische Ambulanz, konnte eine Gruppe aus sieben Patienten mit nachgewiesenem primären Hyperparathyreoidismus für die Untersuchungen herangezogen werden.

C Mit der freundlichen Unterstützung des Dialyseinstitutes Dr. van Endert/Dr. Saueressig/Dr. Tersteegen, 4000 Düsseldorf, konnte dem hinsichtlich der Therapie gemischten Patientengut der Gruppe A eine Gruppe von 71 Patienten im terminalen Stadium der Niereninsuffizienz unter einheitlicher Hämodialysetherapie und drei Patienten im praeterminalen Stadium ohne Dialysetherapie hinzugefügt werden.

D Aus der Abteilung für Abdominal- und Transplantationschirurgie der Medizinischen Hochschule Hannover (Prof. Dr.R. Pichlmayr) wurde eine Gruppe von zehn Patienten

gebildet, die auf dem Boden einer terminalen Niereninsuffizienz im Februar und März 1980 nierentransplantiert wurden. An diesem Patientengut wurde der perioperative Parathormonverlauf kontrolliert.

3.1.2 Basalwertbestimmungen des Serumparathormons

Die Serum-PTH-Bestimmungen (Basalwerte) in allen Patientenseren des Gesamtkollektivs aus Patienten der Medizinischen Kliniken A und C und des Dialyseinstitutes bildeten die Basis für die folgenden Untersuchungen.

Im Serum aller Patienten wurden die PTH-Basalwerte in den beschriebenen verschiedenen PTH-Testsystemen bestimmt. Bei allen Seren konnte die PTH-Bestimmung in den Testsystemen S 22 (intakt und mittelregional), AS (44-68) (mittelregional) und AS (1-34) (N-terminal), zusätzlich bei den meisten Patienten des Patientengutes der Kliniken A und C mit den Systemen S 469 und S 478 (intakt und mittelregional) durchgeführt werden.

3.1.3 Laborparameter und röntgenologische Befunde

Zusammen mit den PTH-Werten wurden die Befunde der Laborparameter Calcium, anorg.PO_4 und der alkalischen Phosphatase, soweit sie aus den Patientenunterlagen entnommen werden konnten, in den Tabellen 1a-c und 2a-d aufgelistet. Bei Patienten, bei denen das Datum der PTH-Bestimmung zu stark von den Daten der Calcium-, anorg.PO_4- bzw. alk. Phosphatasebestimmung differierten, wurde kein entsprechender Wert aufgeführt.

Faßt man die Ergebnisse der Laboruntersuchungen zusammen, läßt sich für das gesamte Patientengut (mit Ausnahme der Patienten mit primären HPT) feststellen, daß die Calciumkonzentration in 15,2 % der Fälle erniedrigt, die Phos-

LABORDATEN HÄMODIALYSE (Patientengut Med.Klinik A)

Patient	Ca^{2+} mmol/l	PO_4^{3-} mmol/l	aP U/l	Rö	AS(1-34) ng/ml	AS(44-68) pg/ml	S 22 /ul/l	S 469 /ul/l	S 478 /ul/l
					P A R A T H O R M O N				
	2,04- 2,59 (N O R M A L W E R T E)	0,81- 1,62	40- 190		bis 0,1	bis 300	10 - 60 (N O R M A L W E R T E)	10 - 120	10 - 60
He (vor HF)	2,2	2,52	300	0	0,35	1600	1300	840	900
He (nach HF)					0,056	880	320	660	1050
He (Filtrat)					0,02	610	500	430	700
Be (vor HF)	2,05	1,84	95	1	0,215	2500	420	660	400
Be (nach HF)					0,07	470	165	420	375
Be (Filtrat)					0,02	300	170	300	700
Wü (vor HF)	2,75	2,52	355	-	0,049	740	500	580	530
Wü (nach HF)					0,015	540	195	370	700
Wü (Filtrat)					0,02	50	150	300	430
Ad (vor HF)	2,45	1,84	-	-	0,02	540	350	450	270
Ad (nach HF)					0,05	430	125	550	640
Ad (Filtrat)					0,02	70	120	270	340
Th (vor HD)	2,3	1,7	199	0	0,55	1150	98	-	-
Fr (vor HD)	3,05	2,0	310	1	0,4	1200	1200	2000	2500
Ka (vor HD)	-	-	-	-	0,9	2500	2000	400	2500
Ka (nach HD)	-	-	-	-	0,44	2500	2000	2500	2000
Rü (vor HD)	2,3	2,26	270	2	0,05	670	200	440	430
Rü (nach HD)					0,01	460	160	360	1350

Tabelle 1a: Labordaten

LABORDATEN NIERENTRANSPLANTATION (Patientengut Med.Klinik A)

Patient	Ca^{2+} mmol/l	PO_4^{3-} mmol/l	aP U/l	Rö	AS(1-34) ng/ml	AS(44-68) pg/ml	S 22 /ul/l	S 469 /ul/l	S 478 /ul/l
					P A R A T H O R M O N				
Mü	2,55	1,6	-	-	0,065	460	10	200	10
Be	1,95	1,1	135	-	0,09	190	10	200	33
Sch	2,35	0,8	-	2	0,06	250	10	200	10
Ic	2,6	1,0	-	-	0,1	560	320	200	125
Se	2,35	0,95	-	-	0,096	560	64	200	18
Co	2,5	0,85	-	2	0,12	315	125	590	10

LABORDATEN C A P D (Patientengut Med.Klinik A)

Pf	-	1,6	155	2	0,56	2500	2300	2500	1500
Bu	2,25	1,0	100	-	0,084	315	10	200	40
Ch	2,4	1,3	165	2	0,14	2500	390	950	260
Ri	2,4	1,9	-	-	0,58	1500	1100	1100	840
We	2,35	1,15	240	3	0,1	380	80	-	-
St	2,1	1,5	155	2	0,77	1200	240	-	-
Ha	2,3	1,49	100	0	0,73	760	310	-	-
Se	2,25	1,45	190	-	0,36	750	185	-	-

Tabelle 1b: Labordaten

LABORDATEN PRAETERMINALE NIERENINSUFFIZIENZ (Patientengut Med.Klinik A)

Patient	Ca^{2+} mmol/l	PO_4^{3-} mmol/l	aP U/l	Rö	AS(1-34) ng/ml	AS(44-68) pg/ml	S 22 /ul/l	S 469 /ul/l	S 478 /ul/l
						P A R A T H O R M O N			
Ar	2,0	1,6	220	-	0,8	2500	2300	1850	1050
VHu	2,05	1,7	60	1	0,27	1150	960	950	600
Pr	2,0	3,1	-	-	0,38	1200	1000	1100	700
St	2,2	1,5	-	2	0,22	600	380	330	220
Wa	1,65	2,26	640	0	1,42	2500	350	-	-
VPo	2,5	2,7	80	-	0,1	2100	420	-	-
Le (vor OP)	2,45	1,00	1055	3	0,27	1050	700	640	460
Le (nach OP)	2,0	1,13	620	3	0,16	790	410	410	285

LABORDATEN PRIM. HYPERPARATHYREOIDISMUS (Patientengut Med. Klinik C)

Bu	2,05	0,81	140	3	0,09	550	250	250	175
Mü	3,05	0,77	100	1	0,115	600	355	200	360
Al	2,9	0,56	366	3	0,53	600	500	500	108
Str	2,7	0,9	296	3	0,84	2500	2300	2500	2400
Ste	3,5	0,55	370	-	0,64	1650	2000	-	-
Be	2,3	-	-	1	0,98	1500	500	-	-
El	2,9	0,96	202	1	0,8	650	10	-	-

Tabelle 1c: Labordaten

Patient	Ca^{2+} mmol/l	PO_4^{3-} mmol/l	aP U/l	Rö	AS(1-34) ng/ml	AS(44-68) pg/ml	S 22 /ul/l
					PARATHORMON		
	2,04-2,59	0,81-1,62	40-190		bis 0,1	bis 300	10-60
	(NORMALWERTE)				(NORMALWERTE)		
I.Go.	2,3	1,9	547	4	0,98	1250	2500
E.Ma.	2,3	2,8	380	1	1,10	2500	2500
E.Ot.	2,3	2,8	100	1	0,36	2500	740
H.Go.(I)	1,7	2,8	293	-	2,80	2500	790
K.Je.	2,1	1,6	110	0	0,49	1900	600
E.Dis.	2,0	2,1	116	2	1,05	2500	340
M.Ma.	2,4	2,2	275	3	1,90	2500	2500
M.Rus.	2,6	2,3	261	3	0,98	2500	1550
E.Die.	1,9	2,8	250	2	1,04	2500	1900
H.Rö.	2,2	2,2	132	1	0,33	2400	290
M.Lo.	2,1	2,3	144	-	0,33	1450	340
L.Ke.	2,3	2,5	263	2	1,15	2500	1030
C.Jä.	2,1	2,1	168	3	0,26	2500	660
G.Ha.	2,6	3,0	274	2	2,00	2500	2500
H.Me.	2,2	2,0	140	2	0,80	2500	740
U.Schm.	2,5	3,3	304	3	1,72	2500	1400
M.Ru.	1,4	1,7	142	3	0,10	550	96

Tabelle 2a: Labordaten

LABORDATEN HÄMODIALYSE (Dialysebeginn vor [illegible])

Patient	Ca^{2+} mmol/l	PO_4^{3-} mmol/l	aP U/l	Rö	AS(1-34) ng/ml	AS(44-68) pg/ml	S 22 ul/l
					P A R A T H O R M O N		
H.Kr.	2,6	2,4	328	3	1,50	2500	1700
W.Me.	2,3	2,7	159	2	0,67	1500	400
E.Ko.	2,2	1,6	172	-	0,10	580	2600
U.Gu.	2,3	1,6	165	1	1,10	2500	2500
G.Wo.(I)	2,9	1,7	565	3	1,50	2500	630
W.Fu.	2,3	2,7	165	2	0,46	1350	600
J.Go.(I)	2,3	3,6	125	2	0,77	2300	480
G.Pa.	1,8	2,1	150	-	0,77	1600	290
F.Pl.	2,2	2,1	210	2	1,01	1700	900
H.Gi.	2,4	1,8	320	3	1,46	2500	740
M.Mü.	2,1	2,8	125	2	0,80	2500	900
H.Ro.	2,5	1,9	78	1	0,46	2500	580
L.Kl.	2,3	1,8	140	3	1,01	2500	560
H.Os.	2,3	1,8	122	2	0,18	1700	540
K.Li.	2,3	1,8	225	1	0,49	2500	960
W.He.	2,3	1,9	350	3	1,90	2500	1250
T.Kr.	2,8	3,1	154	2	0,33	2500	900
J.St.	1,8	1,6	220	-	0,61	1500	460
G.Wi.	2,5	2,1	92	-	0,43	1400	660
M.Ha.(I)	2,1	2,2	406	2	1,10	2500	560
W.Te.	2,4	1,2	100	1	0,43	820	290

Tabelle 2b: Labordaten

LABORDATEN HAEMODIALYSE (Dialyseinstitut van Endert/Saueressig/Tersteegen)

Patient	Ca^{2+} mmol/l	PO_4^{3-} mmol/l	aP U/l	Rö	AS(1-34) ng/ml	AS(44-68) pg/ml	S 22 /ul/l
					P A R A T H O R M O N		
K.Zä.	2,1	2,6	245	1	1,10	1400	500
K.Ja.	2,3	2,1	76	2	0,67	2500	630
M.Schr.	2,8	2,2	283	2	1,05	2500	470
G.Re.	2,2	2,3	120	1	0,67	780	310
M.Vi.	1,8	1,8	90	0	0,94	1150	580
K.Kr.	2,4	1,6	150	-	0,36	2500	560
J.He.	2,5	1,6	65	2	0,84	2500	630
E.Be.	2,2	2,4	84	2	0,61	2500	360
E.Qu.	2,1	2,0	80	2	0,1	1000	220
W.Mü.	2,2	2,6	104	2	0,52	2500	460
T.Ka.	2,6	2,5	157	1	0,10	1200	190
K.Kö.	2,5	2,3	80	-	0,10	340	10
H.Je.	2,1	1,5	218	2	0,52	1600	290
S.Re.	2,1	3,0	142	2	1,05	2500	275
J.Fe.	1,8	2,3	96	2	0,70	2500	330
A.He.	2,2	2,9	109	0	0,73	2500	540
A.Wo.	2,3	2,2	388	2	0,61	1500	480
A.Ah.	2,2	2,3	122	0	1,05	2500	740
S.Hu.	2,3	3,4	149	3	0,52	2500	320
L.Kr.	2,3	1,7	105	1	0,61	2500	480
M.Kr.	2,1	2,8	128	2	0,84	2500	500

Tabelle 2c: Labordaten

LABORDATEN HAEMODIALYSE (Dialyseinstitut van Engert/Saueressig/Tersteegen)

Patient	Ca^{2+} mmol/l	PO_4^{3-} mmol/l	aP U/l	Rö	AS(1-34) ng/ml	AS(44-68) pg/ml	S 22 µl/l
					PARATHORMON		
E.Be.	2,2	2,3	140	-	0,10	1800	400
H.Schr.	2,2	1,9	68	2	0,52	730	180
S.Vo.	2,5	1,2	146	-	0,40	520	185
A.Ne.	2,8	2,2	116	2	0,94	2500	320
K.Ke.	2,9	3,0	112	2	1,10	2500	400
K.Zi.	2,2	2,2	325	3	0,36	2500	280
G.Kr.	1,7	1,4	958	-	0,87	2500	700
G.Wo.(II)	2,6	1,3	500	2	1,46	2500	400
H.Go.(II)	2,6	2,5	390	4	1,50	2500	2100
J.Go.(II)	2,3	3,6	125	2	0,58	1500	360
M.Ha.(II)	2,0	1,7	390	0	1,15	970	580
Hei.	1,8	-	100	-	0,22	1250	340
K.La.	-	-	-	-	0,10	860	185
N.Kn.	2,3	1,5	141	-	0,49	640	205
Vo.	1,8	1,8	160	-	0,61	720	145
G.Kr.	2,5	2,6	249	3	1,01	2500	700
S.Go.	2,4	1,7	84	2	0,67	2500	470
E.Gr.	2,1	1,4	555	1	0,98	2500	540
M.Br.	2,1	1,9	170	2	0,84	2500	330

Tabelle 2d: Labordaten

phatkonzentration in 72,9 % aller Fälle erhöht ist. Die Parathormonkonzentration liegt in 95,6 % (S 22), 94,7 % AS (44-68) bzw. 78,1 % AS (1-34) aller Fälle oberhalb des Normbereichs.

Die in den Unterlagen vorliegenden Röntgenbilder der Hände, des Schädels, der Schulter und des Beckens wurden auf röntgenologische Zeichen einer renalen Osteopathie untersucht (Freyschmidt und Hehrmann, 1978). Mit Hilfe einer graduellen Bewertung der Röntgenbefunde (siehe unten) konnten im weiteren Verlauf der Arbeit Labordaten und Röntgenbefunde miteinander verglichen werden.

Graduelle Bewertung der Röntgenbefunde:

0 keine röntgenologischen Zeichen einer renalen Osteopathie (r.O.)

1 beginnende rönt. Zeichen einer r.O.

2 manifeste rönt. Veränderungen im Sinne einer r.O. an Schädel, Hand, ACG oder ISG

3 langjährige manifeste rönt. Zeichen einer r.O.

Histologische Beckenkammuntersuchungen lagen nur bei einer Minderheit des Gesamtkollektivs (10,5 %) vor, so daß von einer Zuordnung von Histologie und Labordaten abgesehen wurde.

In der Tabelle 3 sind die Normalwerte der untersuchten Laborparameter aufgeführt.

3.2 Korrelationen

3.2.1 PTH-Testsysteme

Um Hinweise für die Wertigkeit der Parathormonbestimmung bei Patienten mit Niereninsuffizienz zu erhalten, wurden

Calcium	:2,04 - 2,59 mmol/l	
anorg. Phosphat	:0,81 - 1,62 mmol/l	
alk. Phosphatase	M: 50 - 190 U/l	
	F: 40 - 190 U/l	
Kreatinin	M: 53 - 97 µmol/l	(0,6 - 1,1 mg%)
	F: 44 - 80 µmol/l	(0,5 - 0,9 mg%)

Parathormon (je nach Testsystem)

S 22	: 10 - 60 µl/l
S 469	: 10 - 120 µl/l
S 478	: 10 - 60 µl/l
AS(44-68)	: bis 300 pg/ml Grenzbereich: 300 - 500 pg/ml
AS(1-34)	: bis 0,1 ng/ml

Tabelle 3: Normalwerte

Korrelationen zwischen den PTH-Konzentrationen in den verschiedenen Testsystemen (3.2.1) ebenso berechnet wie zwischen PTH-Konzentrationen einerseits und klinisch - chemischen Parametern andererseits (3.2.2). Es wurden jeweils die PTH-Werte eines Patientenserums aus zwei Testsystemen miteinander korreliert. Produkt-Moment-Korrelationen wurden für jedes mögliche Testsystempaar berechnet (Mittenecker, 1966). Mit Hilfe des t-Tests nach Student wurde die Signifikanz der untersuchten Korrelationskoeffizienten überprüft. Das gesamte Patientenkollektiv wurde in die Gruppen I (Kliniken A und C) und II (Dialyseinstitut) aufgeteilt, um die unterschiedlichen Therapieformen zu berücksichtigen (s.o.). Danach stellt die Gruppe I (36 Patienten) ein heterogenes, die Gruppe II (74 Patienten) ein homogenes Patientengut dar. Beide Gruppen wurden mit den Testsystemen S 22, AS (1-34) und AS (44-68) ausgetestet (110 Patienten, 121 Untersuchungen). 33 Seren der Gruppe I wurden zusätzlich mit den Systemen S 469 und S 478 untersucht. Die Zahl der Patienten und der Untersuchungen differieren, da von manchen Patienten Seren verschiedener Daten ausgetestet wurden. Die in Tabelle 4 dargestellten Ergebnisse zeigen, daß sich der Korrelationskoeffizient bei allen Testsystemen zwischen $r=0,46$ (S 22- AS(44-68)) und $r=0,85$ (S 469 - S 22) bewegt, und daß alle Korrelationen eine hohe statistische Signifikanz ($\alpha < 0,01$) aufweisen. In der Gruppe I liegen die Korrelationskoeffizienten zwischen $r=0,49$ (S 22-AS(1-34)) und $r=0,85$(S 469-S 22), in Gruppe II zwischen $r=0,46$ (S 22-AS(44-68)) und $r=0,59$ (S 22-AS(1-34)) sowie im Gesamtkollektiv der Gruppen I und II zwischen $r=0,50$ (S 22-AS(1-34)) und $r=0,63$ (AS(44-68) - AS(1-34)).

Die höchsten Korrelationskoeffizienten ($r>0,73$; $t>6,1$) finden sich zwischen den Systemen, die nach unserer Kenntnis auch das intakte Molekül (1-84)hPTH mitmessen, d.h.

Testsysteme	Gruppe	Anzahl	Korr.-koef.(r)	t	Signif.-niveau(α)
S 469-S 478	Ib	33	0,73	6,142	<0,01
S 469-S 22	Ib	33	0,85	9,282	<0,01
S 469-AS(44-68)	Ib	33	0,74	6,327	<0,01
S 469-AS(1-34)	Ib	33	0,69	5,481	<0,01
S 478-S 22	Ib	33	0,80	7,669	<0,01
S 478-AS(44-68)	Ib	33	0,66	5,052	<0,01
S 478-AS(1-34)	Ib	33	0,68	5,260	<0,01
S 22-AS(44-68)	Ia	43	0,76	7,495	<0,01
	II	78	0,46	4,521	<0,01
	Ia+II	121	0,53	6,823	<0,01
S 22-AS(1-34)	Ia	43	0,49	4,821	<0,01
	II	78	0,59	6,377	<0,01
	Ia+II	121	0,50	6,302	<0,01
AS(44-68) - AS(1-34)	Ia	43	0,61	4,934	<0,01
	II	78	0,51	5,174	<0,01
	Ia+II	121	0,63	8,800	<0,01

Tabelle 4 : Produkt-Moment-Korrelation der PTH-Werte verschiedener PTH-Testsysteme

Überprüfung der Signifikanz der Korrelationskoeffizienten r mit Hilfe des t-Tests

Patientengruppe I (Med.Kliniken A und C)
Ia n=36 Pat.; 43 Untersuchungen
Ib n=26 Pat.; 33 Untersuchungen

Patientengruppe II (Dialyseinstitut)
n= 74 Pat.; 78 Untersuchungen

Gesamtkollektiv aus den Patientengruppen Ia und II
n=110 Pat.; 121 Untersuchungen

zwischen den Testsystemen S 22, S 469 und S 478.

Die spezifischen Fragment-Assays AS(44-68) und AS (1-34) weisen untereinander und zu den übrigen Systemen niedrige aber signifikante Korrelationskoeffizienten auf.

Allerdings sind die Korrelationskoeffizienten der PTH-Meßwerte untereinander statistisch signifikant.

3.2.2 PTH-Basalwerte und Laborparameter Calcium, anorg. PO_4 und alk. Phosphatase

Analog der oben beschriebenen Methode wurden Korrelationen zwischen den für das Krankheitsbild der renalen Osteopathie wichtigen Laborparametern Calcium, anorg. PO_4 und alk. Phosphatase und den PTH-Basalwerten aus den unterschiedlichen Testsystemen gebildet. Zur besseren Übersicht wurde das Gesamtkollektiv wieder in die Gruppe I und II aufgeteilt. Zusätzlich blieb in der Gruppe I die Untergruppe aus den Patienten mit prim. Hyperparathyreoidismus aus pathophysiologischen Überlegungen unberücksichtigt. Die Ergebnisse der gebildeten Korrelationen und die Signifikanzberechnung sind in der Tabelle 5 dargestellt.

a) Die Korrelation der Calciumwerte (a) mit PTH-Basalwerten weist Korrelationskoeffizienten zwischen r=0,08 (Ca - PTH(S 22)) und r=0,49 (Ca - PTH AS(1-34)) in Gruppe I, sowie zwischen r=0,12 (Ca - PTH AS(1-34)) und r=0,23 (Ca - PTH AS(44-68)) in der Gruppe II auf. Lediglich die beiden Korrelationen mit r=0,49 (n=28) und r=0,23 (n=77) erfüllen mit $\alpha < 0,01$ bzw. 0,05 die Kriterien der statistischen Signifikanz.

b) Vergleichbare Verhältnisse lassen sich zwischen den Korrelationen anorg. PO_4- und PTH-Basalwerte fest-

Labor-parameter	Test-system	Gruppe	Anzahl	Korr.-koef.(r)	t	Signif.-niveau (α)
Calcium	S 469	I	21	0,11	0,483	> 0,5
	S 478	I	21	0,32	1,475	< 0,5
	S 22	I	28	0,08	0,408	> 0,5
		II	77	0,22	1,948	< 0,1
	AS(44-68)	I	28	0,32	1,721	< 0,1
		II	77	0,23	2,047	< 0,05
	AS(1-34)	I	28	0,49	2,864	< 0,01
		II	77	0,12	1,047	< 0,5
anorg. Phosphat	S 469	I	22	0,36	1,729	< 0,1
	S 478	I	22	0,48	2,452	< 0,05
	S 22	I	29	0,35	1,944	< 0,1
		II	76	0,22	1,940	< 0,1
	AS(44-68)	I	29	0,45	2,621	< 0,02
		II	76	0,31	2,806	< 0,01
	AS(1-34)	I	29	0,27	1,459	< 0,5
		II	76	0,20	1,757	< 0,1
alkal. Phosphatase	S 469	I	13	0,16	0,541	> 0,5
	S 478	I	13	0,04	0,134	> 0,5
	S 22	I	20	0,0008	0,0034	> 0,5
		II	77	0,32	2,92	< 0,01
	AS(44-68)	I	20	0,05	0,213	> 0,5
		II	77	0,28	2,527	< 0,02
	AS(1-34)	I	20	0,15	0,645	> 0,5
		II	77	0,01	0,086	> 0,5

Tabelle 5: Korrelation zwischen den Testparametern Calcium, anorg. Phosphat und alk. Phosphatase mit den PTH-Werten der verschiedenen PTH-Testsysteme an Hand der Patientengruppen I (Med.Klinik A und C; alle Gruppen außer prim.HPT) und II (Dialyseinstitut)
Prüfung der Signifikanz der Korrelationskoeffizienten r mit Hilfe des t-Tests.

stellen. Die Werte der Korrelationskoeffizienten liegen zwischen r=0,27 und r=0,48 in Gruppe I bzw. r=0,20 und r=0,31 in Gruppe II. Nur die Korrelation zwischen den anorg. PO_4- und PTH (AS(44-68))-Werten ist mit r=0,45 (n=29, $\alpha < 0,02$) und r=0,31 (n=76, $\alpha < 0,01$) statistisch signifikant.

c) Praktisch keine Korrelation läßt sich zwischen den Meßwerten der alk. Phosphatase und den PTH-Basalwerten erkennen. Mit Ausnahme der Korrelationen alk. Phosphatase - PTH (S 22) mit r=0,32 (n=77, $\alpha < 0,01$ und alk. Phosphatase - PTH (AS(44-68)) mit r=0,28 (n=77, $\alpha < 0,02$) liegen die übrigen Korrelationskoeffizienten unter r=0,16 und oberhalb einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 50 % ($\alpha > 0,5$) bei der Berechnung der statistischen Signifikanz.

Zusammengefaßt finden sich in dem untersuchten Patientenkollektiv niedrige und nur in Ausnahmefällen signifikante Korrelationskoeffizienten zwischen den PTH-Werten und den Laborparametern Calcium, anorg. Phosphat und der alk. Phosphatase.

Zur weiteren Untersuchung des statistischen Zusammenhangs zwischen PTH und den obigen Laborparametern wurden für jeden der drei Laborparameter drei Untergruppen gebildet, in die die Patienten in Abhängigkeit von der Höhe ihres Serumspiegels von Calcium, anorg. PO_4 oder der alk. Phosphatase eingeordnet wurden. Nach dieser Zuordnung wurden in jeder Gruppe der Mittelwert und die Standardabweichung der PTH-Basalwerte berechnet. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 6 dargestellt.

a) In die Untergruppe I wurden Patienten mit niedrigem Calciumwerten (<2,2 mmol/l), in die Untergruppe II Patienten mit mittleren Calciumwerten (zwischen 2,2 und 2,45 mmol/l) und in die dritte Untergruppe Patienten

C A L C I U M

Gruppe	S 22(µl/l)			AS (44-68)(pg/ml)			AS(1-34)(ng/ml)		
	$\bar{x}$	SD	n	$\bar{x}$	SD	n	$\bar{x}$	SD	n
Calcium									
I(unter 2,2 mmol/l)	545	462	34	1776	756	34	0,75	0,50	34
II(2,2 - 2,45 mmol/l)	630	590	47	1751	823	47	0,59	0,45	47
III(über 2,45 mmol/l)	664	644	24	1708	948	24	0,71	0,62	24
anorg.Phosphat									
I(unter 1,5 mmol/l)	256	207	21	960	790	21	0,37	0,37	21
II(1,5 - 2,5 mmol/l)	735	631	59	1883	759	59	0,71	0,46	59
III(über 2,5 mmol/l)	823	639	25	2095	575	25	0,82	0,64	25
alk.Phosphatase									
I(unter 190 U/l)	475	422	59	1786	807	59	0,52	0,31	59
II(190 - 400 U/l)	1042	779	30	1908	755	30	0,98	0,67	30
III(über 400 U/l)	615	270	8	2149	700	8	0,97	0,48	8

Tabelle 6 : Laborparameter - Untergruppen; Zuordnung von PTH-Werten (Mittelwert - Standardabweichung)

mit hohem Calciumspiegel (> 2,45 mmol/l) eingeordnet und in jeder Gruppe der Mittelwert der PTH-Basalwerte gebildet. Vergleicht man die Mittelwerte der drei Gruppen in jedem Testsystem miteinander, so läßt sich in keinem Fall eine eindeutige Aussage über einen Zusammenhang zwischen den Calcium- und PTH-Werten machen.

b) Während sich die Untergruppierung für das Calcium an dessen Normalbereich orientierte, mußten bei der Einteilung, die sich nach der Höhe der anorg. Phosphatwerte richtete, die im allgemeinen erhöhten Phosphatwerte bei Niereninsuffizienz berücksichtigt werden. Es wurde eine Einteilung gewählt, die in der "niedrigen" Untergruppe (I) ($\leq$ 1,5mmol/l) nahezu den gesamten Normbereich enthielt. In der "mittleren" Gruppe wurden Patienten mit Werten zwischen 1,5 und 2,5 mmol/l und in der "hohen" Gruppe Patienten mit Werten über 2,5 mmol/l Serumphosphat zusammengefaßt. In allen drei Testsystemen zeigt die Tabelle 6, daß mit der Zunahme des Phosphatgehaltes eine Zunahme der PTH-Mittelwerte festzustellen ist. In allen drei Testsystemen läßt sich zwischen den PTH-Werten der "niedrigen" und der "mittleren" Gruppe eine im t-Test nachgewiesene statistisch signifikante Steigerung berechnen (S 22:t_{78} = -3,53; AS(44-68):t_{78} = -4,73; AS(1-34):t_{78} = - 3,04). In den Systemen AS(44-68) und AS(1-34) ist eine Verdoppelung, im System S 22 eine Verdreifachung des PTH-Mittelwertes zu beobachten. Mit weiterer Zunahme des Phosphatwertes (> 2,5 mmol/l) nehmen die PTH-Mittelwerte nur noch geringfügig zu.

Die Gruppeneinteilung, die sich an der Höhe der alkalischen Phosphatase (aP) orientiert, führt zu einer "niedrigen" Gruppe aus Patienten mit aP-Werten im Normbereich ($\leq$ 190 U/l) einer "mittleren" ($\leq$ 400 U/l) und einer "hohen" Gruppe (> 400 U/l). Im Testsystem S 22 kann keine eindeutige Aus-

sage gemacht werden. Die PTH-Mittelwerte liegen in der Gruppe II höher als in den Gruppen I und III. Die beiden anderen Testsysteme lassen eine Zunahme der PTH-Mittelwerte bei höheren aP-Werten erkennen. Nur der im Testsystem AS(1-34) zu messende Anstieg der PTH-Mittelwerte zwischen den Gruppen I und II ist statistisch signifikant ($t_{87} = -4{,}44$). Alle anderen Unterschiede können auf Grund der hohen Standardabweichungen der Signifikanzprüfung nicht standhalten.

3.2.3 Röntgenbefunde - Labordaten

Über den Schweregrad einer renalen Osteopathie vermögen Röntgenaufnahmen des Skeletts wertvolle Auskünfte zu geben. Allgemeine typische Veränderungen im Sinne einer renalen Osteopathie sind Demineralisierung und Transparenzerhöhung des Knochens. Spezielle pathologische Zeichen sind am Schädel die granuläre Atrophie, am Hand- und Fußskelett Kortikaliserosionen, Spongiosierung der Kompacta und Akroosteolyse sowie die Erweiterung des Gelenkspaltes am Akromioclavicular- und Iliosakralgelenk (Freyschmidt, Hehrmann, 1978).
Nach ihrem röntgenologischen Befund wurden die Patienten in vier Gruppen (Rö 0 - 3) eingeteilt:

Rö 0 : kein röntgenologischer Hinweis auf eine renale Osteopathie

Rö 1 : leichte Veränderungen (röntgenologisch)

Rö 2 : mittelschwere Veränderungen (röntgenologisch)

Rö 3 : typische Veränderungen (röntgenologisch) im Sinne einer renalen Osteopathie

Die Bildung dieser Gruppen ermöglichte die Vergleiche mit den Laborparametern. Für die Laborparameter Calcium, anorg. Phosphat, alk. Phosphatase und PTH wurden in allen vier Gruppen die Mittelwerte und Standardabweichungen berechnet. Die in der Tabelle 7 eingetragenen Ergebnisse zeigen kein eindeutiges Verhalten der Parameter bei zunehmenden Schweregraden der röntgenologischen Befunde.

Für das Calcium ist ein leichter Anstieg zwischen den Gruppen Rö 0 und 3 zu verzeichnen, der mit $t_{25} = 1,825$ ($\alpha = 0,05$) signifikant ist. Ein ähnliches Ergebnis ist für die Zuordnung der Röntgendaten mit der alk. Phosphatase zu sehen. Hier sind die Mittelwerte in den Gruppen Rö 0 - 2 nahezu konstant. Der Mittelwert steigt beim Übergang zur Gruppe Rö 3 signifikant an ($t_{27} = 1,754$, $\alpha = 0,05$). Die für das anorg. Phosphat gebildeten Mittelwerte zeigen in allen vier Gruppen keine signifikanten Unterschiede.

Der Vergleich der röntgenologischen Befunde mit den PTH-Mittelwerten zeigt im System S 22 zwar einen höheren Mittelwert in der Rö-Gruppe 1 als in Gruppe Rö 0, der aber auf Grund der hohen Standardabweichung nicht signifikant ist ($t_{23} = 1,249$, $\alpha = 0,05$). Gleiches gilt für die Mittelwertabnahme in Rö 2 und Zunahme in Rö 3. Im Testsystem AS(44-68) ist zwischen der Gruppe Rö 0 und den konstanten Ergebnissen der Gruppen Rö 1-3 zwar ein Anstieg zu erkennen, der aber ebenso die Bedingungen der Signifikanzprüfung ($t_{23} = 1,172$, $\alpha = 0,05$) nicht erfüllt. Die PTH-Mittelwerte des Testsystems AS(1-34) verhalten sich in den Gruppen Rö 0, 1, 2 nahezu konstant. Der leichte Anstieg in Gruppe 3 ist nicht signifikant ($t_{54} = 0,975$, $\alpha = 0,05$).

Die in Abbildung 5 graphisch aufgetragenen Ergebnisse verdeutlichen, daß lediglich für die Laborparametermittelwerte des Calciums und der alk. Phosphatase signifikante

Röntg.Untergruppe	(Rö 0)			(Rö 1)			(Rö 2)			(Rö 3)		
Laborparameter	n	$\bar{x}$	SD	n	$\bar{x}$	SD	n	$\bar{x}$	SD	n	$\bar{x}$	SD
Calcium (mmol/l)	9	2,14	0,26	16	2,31	0,25	35	2,3	0,26	18	2,375	0,3
anorg. Phosphat (mmol/l)	9	2,07	0,47	16	2,05	0,5	36	2,21	0,68	18	2,05	0,68
alkal. Phosphatase (U/l)	9	196	180	16	203	128	33	173	103	18	342	214
PTH-Werte:												
S 22 (ul/l)	9	575	337,3	16	927	800	36	590,8	546,4	18	918	717
AS(44-68)(pg/ml)	9	1717	666	16	2050	690	36	1992	743	18	2072	835
AS(1-34) (ng/ml)	9	0,74	0,34	16	0,64	0,35	36	0,69	0,42	18	0,95	0,65

Tabelle 7: Zusammenhang zwischen Röntgendaten und Laborparametern
Anhand der Röntgenbefunde wurden vier Untergruppen gebildet:
Rö-Gruppe 0: kein röntgenologischer Hinweis auf eine renale Osteopathie
1: leichte Veränderungen (röntgenologisch)
2: mittelschwere Veränderungen (röntgenologisch)
3: typische röntgenologische Veränderungen im Sinne einer renalen Osteopathie
Berechnung von Mittelwert ($\bar{x}$) und Standardabweichung (SD)(vgl. Abb. 5)

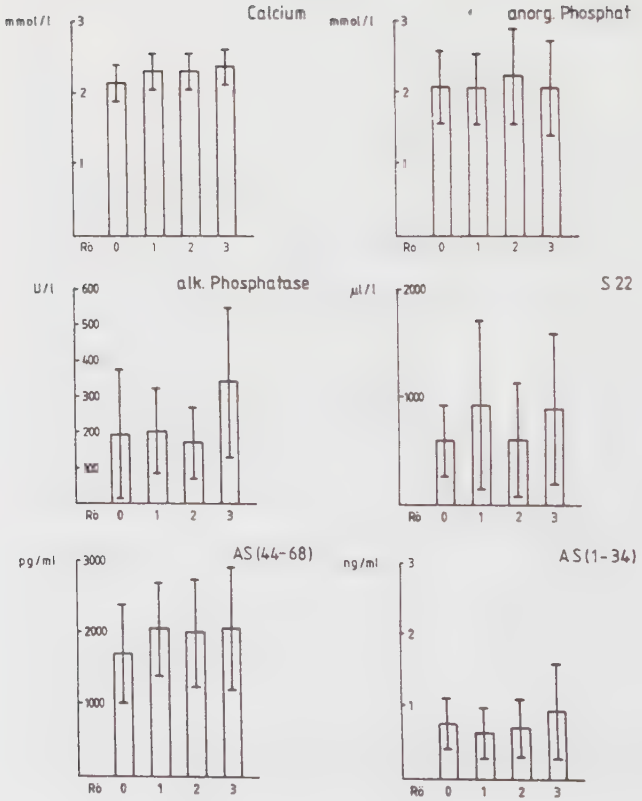


Abbildung 5: Zusammenhang zwischen den röntgenologischen Untergruppen Rö O - 3 und den Laborparametern Calcium, anorg. Phosphat, alk. Phosphatase und Parathormon (S 22, AS(44-68), AS(1-34))

Unterschiede zwischen den Gruppen Rö O ohne pathologische Zeichen und der Gruppe Rö 3 mit massiven röntgenologischen Veränderungen im Sinne einer renalen Osteopathie bestehen. Dagegen können für das anorg. Phosphat und die PTH-Messungen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Laborparametermittelwerten und den vier röntgenologischen Untergruppen gefunden werden.

3.3 Ergebnisse in den Untergruppen

Im Folgenden sollen die PTH-Werte der verschiedenen Untergruppen des Patientengutes der Medizinischen Kliniken A und C miteinander verglichen werden (s. Basalwerte Tab. 1a - c und 2a - d). Die Untergruppen unterscheiden sich in der Form des Hyperparathyreoidismus (primär und sekundär), in unterschiedlichen Stadien der Niereninsuffizienz (praeterminal und terminal) sowie in der verschiedenartigen Therapie der terminalen Niereninsuffizienz (Hämodialyse, Hämofiltration, CAPD, Nierentransplantation).

Fast alle Patienten im praeterminalen Stadium der Niereninsuffizienz zeigen das typische Laborbild einer Niereninsuffizienz mit Phosphatstau, d.h. mit erhöhten Werten des anorg. Phosphates und erniedrigten Calciumwerten. Alle Patienten weisen in allen Testsystemen erhöhte PTH-Basalwerte als Zeichen der kompensatorischen Gegenregulation auf.

Die unterschiedlichen Dialyseverfahren bei terminaler Niereninsuffizienz (Hämodialyse, Hämofiltration, CAPD) führen nicht zu wesentlichen Veränderungen in der PTH-Konzentration. Alle drei Therapiegruppen zeigen in allen PTH-Testsystemen deutlich erhöhte Basalwerte. In der Gruppe der CAPD-Patienten fallen lediglich zwei Patienten (Bu;We)

mit normal bzw. nur grenzwertig erhöhten PTH-Werten aber differierendem Krankheitsverlauf auf. Bei Patientin Bu., deren terminale Niereninsuffizienz seit fünf Monaten bekannt und die seit 4,5 Monaten mit der CAPD behandelt wird, liegen neben dem PTH auch die Laborwerte für Calcium, anorg. Phosphat und die alk. Phosphatase im Normbereich. Das Kreatinin ist als einziger Laborparameter mit 3,5 mg % erhöht. Der Patient We. wird nach einer langjährigen Hämodialysebehandlungsdauer von 4 3/4 Jahren seit zwei Monaten mit der CAPD therapiert. Neben dem PTH sind auch die Laborwerte für Calcium und das anorg. Phosphat im Normbereich, während die alk. Phosphatase (240 U/l) und das Kreatinin (19,6 mg %) leicht bzw. sehr deutlich erhöht sind. Röntgenologisch finden sich bei diesem Patienten typische Zeichen der renalen Osteopathie. Die übrigen Patienten aus der CAPD-Gruppe, mit Dialysezeiten zwischen zwei Monaten und mehreren Jahren, weisen alle erhöhte PTH-Basalwerte auf. Die Laborparameter Calcium, anorg. Phosphat und die alk. Phosphatase liegen in den meisten Fällen im Normbereich.

Die Patienten mit Hämodialyse- bzw. Hämofiltrationstherapie zeigen bis auf einen Fall (He.) einen langjährigen Behandlungsverlauf. Die Calciumwerte liegen mit Ausnahme von zwei Fällen im Normbereich, während das anorg. Phosphat in allen und die alk. Phosphatase in vier von fünf Fällen deutlich erhöht ist. Bis auf einen Patienten, bei dem es aus technischen Gründen nicht möglich war, wurde bei allen anderen vor und nach einer Hämodialyse bzw. Hömofiltration Blut zur Bestimmung des Serumparathormons entnommen.

Der Vergleich der PTH-Meßwerte vor und nach der Hämofiltration zeigt eine Verringerung des Serum-PTHs durch die Filtrationsbehandlung. In den Systemen S 22, AS(1-34) und AS(44-48), d.h. bei der Bestimmung von PTH-Fragmenten, sind deutliche Unterschiede feststellbar. Die Bestimmung

des intakten Hormons mit S 469 zeigt dagegen nur eine geringe Abnahme der PTH-Werte, während mit S 478 in 3 von 4 Fällen sogar ein Anstieg zu messen ist. Bei den Fällen mit Hämodialysebehandlung sind nur im Testsystem AS(1-34) Unterschiede erkennbar. In den anderen Systemen sind die PTH-Werte vor und nach der Dialyse nahezu unverändert gleich hoch.

Auch in dem bei der Hämofiltration entstehenden Ultrafiltrat (ca. 22 Liter pro Patient) wurde das PTH gemessen. Hierzu wurde ein Aliquot (100 ml) vom Filtrat entnommen und darin das PTH bestimmt. In dem Testsystem AS(1-34) liegen die Meßwerte an der unteren Grenze der Meßbarkeit. Dagegen sind mit den vier anderen Testsystemen meßbare PTH-Werte zu finden. Die in den Testsystemen AS(44-68) und S 22 erhaltenen PTH-Werten zeigen, daß eine große Differenz der Serum-PTH-Werte vor und nach der Filtration mit einer hohen PTH-Konzentration im Ultrafiltrat einhergeht. Auch mit den Testsystemen S 469 und S 478 werden hohe PTH-Konzentrationen im Ultrafiltrat gemessen, obwohl hier die Konzentrationsdifferenz im Plasma vor und nach Hämofiltration gering ist.

Besondere Erwähnung verdient die Patientin Le. (präterminale Niereninsuffizienz):
Sie entwickelte im Verlauf der zunehmenden Niereninsuffizienz (Kreatinin 5,0 mg%) einen sek. HPT mit einer Nebenschilddrüsenhyperplasie bei stark erhöhten Werten der alk. Phosphatase (1055 U/l) und röntgenologisch deutlichen Zeichen der renalen Osteopathie. Vor der operativen Entfernung der Nebenschilddrüsen waren alle PTH-Werte stark erhöht und die Parameter Calcium und das anorg. Phosphat im Normbereich. 16 Tage nach der Operation (Parathyreodektomie und Reimplantation) hatte sich zwar die alk. Phosphatase auf nahezu die Hälfte reduziert, lag aber ebenso wie die nur leicht abgefallenen PTH-Werte immer noch

deutlich oberhalb des Normbereichs. Im Vergleich zu den von Hehrmann (1980) beschriebenen PTH-Verläufen nach Parathyreoidektomie und Reimplantation, bei denen in den ersten 24 Stunden postoperativ ein PTH-Abfall von mehr als 50 % der Ausgangswerte meßbar war, waren die hier gemessenen Werte noch deutlich erhöht, so daß auf ein unvollständiges Entfernen des Nebenschilddrüsengewebes geschlossen werden mußte.

Aus dem Patientengut der endokrinologischen Ambulanz der Med. Klinik C stammt eine Patientengruppe mit nachgewiesenem bzw. mit Verdacht auf einen primären Hyperparathyreoidismus (Pat. Mü.). Die Laborwerte zeigen bei fünf der sieben Patienten einen erhöhten Wert des Calciums und in vier von sechs Fällen einen erniedrigten Wert für das anorg. Phosphat und eine erhöhte alk. Phosphatase. Die PTH-Basalwerte liegen bei zwei Patienten (Bu.:nachgewiesener prim. HPT, Rö-Gruppe 2; Mü.:V.a. prim. HPT (Ca : 3,05 mmol/l, PO_4 : 0,77 mmol/l)) im oberen Grenzbereich. Bei den anderen fünf Patienten lassen sich in allen Testsystemen hohe PTH-Werte messen (Ausnahme: Pat. El.: PTH (S 22) = 10 µg/l).

Faßt man die Ergebnisse der PTH-Messungen in den Untergruppen zusammen, so kann man erkennen, daß nur in der Gruppe der Patienten nach erfolgreicher Nierentransplantation ohne postoperative Komplikationen in allen Testsystemen normale PTH-Werte gemessen werden konnten. Dagegen waren die PTH-Basalwerte fast aller Patienten der übrigen Gruppen mit praeterminaler und terminaler Niereninsuffizienz sowie primärem und sekundärem Hyperparathyreoidismus stark erhöht.

3.4 Prüfung der Unabhängigkeit der PTH-Basalwerte von der klinischen Beurteilung und der Aluminiumhydroxid-Dosis

Zur Bestimmung der Unabhängigkeit der beiden Merkmale (a) PTH und "klinische Beurteilung" bzw. (b) PTH und $Al(OH)_3$ diente der X^2-Test.
Das Patientengut des Dialyseinstitutes wurde hierzu in Gruppen unterteilt:

(a) Die klinische Beurteilung erfolgte nach einer Empfehlung der EDTA (Europäisches Zentrum für Dialyse- und Transplantationsorganisation, London):

- + + + : Arbeitsfähig, voll berufsfähig einschließlich ganztägiger Hausfrauentätigkeit
- + + : Arbeitsfähig, teilweise beschäftigt, einschließlich zeitweiser Hausfrauentätigkeit
- + : Arbeitsfähig, aber nicht berufstätig, kein entsprechender Arbeitsplatz zur Verfügung
- - + : Arbeitsfähig, aber nicht voll berufstätig, Verdienstmöglichkeit geringer als die Rente
- - : Arbeitsunfähig, lebt zu Hause, ist imstande, weitgehend für sich selbst zu sorgen (braucht gelegentlich Hilfe)
- - - : Unfähig für sich selbst zu sorgen, benötigt stationäre oder gleichartige Pflege zu Hause

(b) Die Tagesdosen der verschiedenen $Al(OH)_3$-Präparate wurden in mg $Al(OH)_3$/24 h umgerechnet (Aludrox$^{(R)}$, 1 Kap.= 440 mg; Alucap$^{(R)}$, 1 Kap.= 475 mg; Antiphos$^{(R)}$, 1 Kap.= 600 mg; Aluminiumhydroxid Kapseln 400$^{(R)}$, 400 mg). Je nach der Tagesdosis wurden drei Gruppen von Patienten gebildet:

I : bis 4000 mg $Al(OH)_3$ /Tag

II : 4001 bis 6000 mg $Al(OH)_3$ /Tag

III : über 6000 mg $Al(OH)_3$ /Tag

(c) In jedem der drei Testsysteme zur PTH-Bestimmung wurden drei Gruppen gebildet:

S 22: I (bis 500/ul/l)
II (501 bis 1500/ul/l)
III (über 1500/ul/l)

AS(1-34): I (bis 0,5 ng/ml)
II (0,51 bis 1,5 ng/ml)
III (über 1,5 ng/ml)

AS(44-68): I (bis 500 pg/ml)
II (501 bis 1500 pg/ml)
III (über 1500 pg/ml)

Ergebnisse:

(a) Die Unabhängigkeitsuntersuchungen zwischen den PTH-Werten und der klinischen Beurteilung zeigt in keinem Fall eine Abhängigkeit zwischen den Merkmalen. Da in jedem Testsystem eine (k=6; l=3) 18-Feldertafel vorliegt, beträgt das Quantil $X^2_{10;0,95}$ (entsprechend f=(6-1) x (3-1)=10 Freiheitsgraden und p=0,05) in jedem Fall $X^2_{10;0,95} = 18,3$ (nach der Tabelle für X^2_f-Verteilung). Die Prüfgrößen lagen für jedes der drei PTH-Testsysteme niedriger als dieses Quantil:
S 22 (X^2=14,51), AS(1-34) (X^2=11,64), AS(44-68) (X^2=10,15)
(vgl. Tabelle 8a)

S 22

Klinischer Status	1	2	3	
+++	9	8	2	19
++	3	7	2	12
+	4	3	0	7
-+	8	0	2	10
-	8	7	1	16
--	4	2	0	6
	36	27	7	70

S 22

$Al(OH)_3$	1	2	3	
I	11	7	1	19
II	8	9	2	19
III	9	11	4	24
	28	27	7	62

AS(44-68)

Klinischer Status	1	2	3	
+++	1	5	13	19
++	0	1	11	12
+	0	2	5	7
-+	0	3	7	10
-	0	4	12	16
--	0	4	2	6
	1	19	50	70

AS(44-68)

$Al(OH)_3$	1	2	3	
I	1	2	14	19
II	0	5	14	19
III	0	4	20	24
	1	13	48	62

AS(1-34)

Klinischer Status	1	2	3	
+++	7	10	2	19
++	0	11	1	12
+	2	5	0	7
-+	3	7	0	10
-	5	10	1	16
--	4	2	0	6
	21	45	4	70

Abb.:8a Kontingenztafeln (klinischer Status / PTH)

AS(1-34)

$Al(OH)_3$	1	2	3	
I	6	12	1	19
II	5	13	1	19
III	8	14	2	24
	19	39	4	62

Abb.: 8b Kontingenztafeln ($Al(OH)_3$/PTH)

(b) Auch zwischen den Merkmalen PTH- und $Al(OH)_3$-Konzentration konnte keine Abhängigkeit festgestellt werden. Für jedes Testsystem wurde eine 9-Feldertafel (k=3; l=3) aufgestellt. Entsprechend f=(3-1) x (3-1) = 4 Freiheitsgraden beträgt das Quantil $X^2_{4;0,95} = 9,49$. Die Prüfgrößen lagen für jedes PTH-Testsystem niedriger als das Quantil:
S 22 (X^2=4,37), AS(1-34) (X^2=0,57), AS(44-68) (X^2=2,80) (vgl. Tabelle 8b).

Da in jedem der untersuchten Fälle die Prüfgröße niedriger als das Quantil ist, muß jeweils die Nullhypothese beibehalten werden, d.h. es besteht im untersuchten Kollektiv keine Abhängigkeit zwischen PTH-Konzentration und klinischer Beurteilung bzw. Aluminiumhydroxydkonzentration.

3.5 Säulenchromatographie

Mit Hilfe der Gelfiltration wurden Patientenseren chromatographisch aufgetrennt, um die Verteilung von PTH-Fragmenten im Serum von Dialysepflichtigen (Hämodialyse, CAPD) im Vergleich zu Seren von Patienten mit prim. Hyperparathyreoidismus zu untersuchen.

3.5.1 Vorversuche

Bei der Suche nach einer geeigneten Säulengröße mußte ein Kompromiß gefunden werden, denn zum einen nimmt die Güte der chromatographischen Auftrennung mit der Größe des Gelvolumens zu, zum anderen führt aber ein zu großes Säulenvolumen zu einer zu starken Verdünnung der zu eluierenden Serumprobe. Für die vorgesehenen Untersuchungen erschien daher eine Säule von 35 cm x 2,5 cm Gelvolumen (Sephadex G 50 fine) geeignet. Das Auftragevolumen der Probe betrug 2 ml und es wurden pro Säulenlauf 50 Fraktionen a 3 ml eluiert.

Als Elutionsmedium diente 0,1 M Ammoniumacetatpuffer pH 5,0. Die Eluate wurden ohne weiteren Konzentrierungsvorgang mit den verschiedenen PTH-Testverfahren ausgetestet. Hierzu war es notwendig, alle Eluate durch Zugabe von 0,3 ml 1 N NaOH pro Eluat zu neutralisieren, da das Austesten der Eluate bei pH 5,0 keine verwertbaren Ergebnisse lieferte.

Die hier dargestellten Probleme zeigen, daß das Verfahren der chromatographischen Auftrennung und der PTH-Bestimmung in den Eluaten für die Routine zu aufwendig und somit ungeeignet ist.

3.5.2 Eichung der Säule

Die Chromatographiesäule wurde mit den Farbindikatoren Dextran Blue (V_o = Ausschlußvolumen) und Cytochrom C (12500 Dalton), sowie mit den Tracern ^{125}J-bPTH (ca. 9500 Dalton), ^{125}J-(1-34)hPTH (ca. 4100 Dalton) und ^{125}J-(44-68)hPTH (ca. 2800 Dalton) geeicht (Abb. 6). Nach der Eichung liegt das Ausschlußvolumen (V_o) bei 39 ml, das intakte (1-84)bPTH bei 63 ml, (1-34)hPTH bei 84 ml und (44-68)hPTH bei 99 ml. Das Ende der Elution fällt mit dem Jodpeak (ca. 130 ml) zusammen. Im Rahmen des die Säulengröße betreffenden Kompromisses muß die Güte der erzielten Auftrennung der PTH-Fragmente als zufriedenstellend bezeichnet werden.

3.5.3 Ergebnisse der Chromatographie

Untersucht wurden zwei Seren von Patienten mit primären HPT und fünf Seren von Patienten im terminalen Stadium der Niereninsuffizienz, die mit Hämodialyse (2 Seren) oder

CAPD (3 Seren) behandelt wurden. Die Eluate wurden jeweils mit den PTH-Assaysystemen S 22, AS(1-34) und AS(44-68) ausgetestet.

a) Bei der Untersuchung der primären HPT-Seren findet sich mit den Testseren S 22 und AS(44-68) jeweils ein breiter großmolekularer Peak mit einem Molekulargewicht von ca. 9500 bis 4000 Dalton. Ein spezifischer AS(44-68) PTH-Peak, der nach der Eichung bei ca. 100 ml Eluatvolumen zu erwarten wäre, ist mit dem homologen AS(44-68)-Assay nicht zu beobachten, d.h., daß auch mit diesem Fragmentassay nur großmolekulare Fragmente meßbar sind.
Mit dem AS(1-34)-Testsystem lassen sich über den gesamten Meßbereich nur minimale PTH-Konzentrationen beobachten (Abb. 7).

b) Abbildung 8 zeigt die chromatographische Auftrennung des Serums eines Patienten mit sekundärem HPT bei terminaler Niereninsuffizienz und Hämodialysetherapie vor operativer Entfernung der Nebenschilddrüsen. Vergleichbar mit den Ergebnissen beim primären HPT zeigen sich breite großmolekulare Peaks zwischen 9500 und 3500 Daltons in den Systemen S 22 und AS(44-68) PTH. Auch hier ist im Testsystem AS(44-68) kein weiterer Peak für das Fragment (44-68)PTH zu beoabchten.

Trotz des sehr hohen PTH-Basalwertes von 4,4 ng/ml im System AS(1-34) lassen sich mit diesem Meßsystem keine PTH-Fragmente in den Eluaten messen. Nach der Entfernung der Nebenschilddrüsen und einer nahezu völligen Normalisierung der PTH-Basalwerte in allen drei Meßsystemen wurde das Serum dieses Patienten erneut chromatographisch aufgetrennt. Der Kurvenverlauf entspricht in etwa dem Chromatographiebefund in Abb. 8, nur sind die mit den

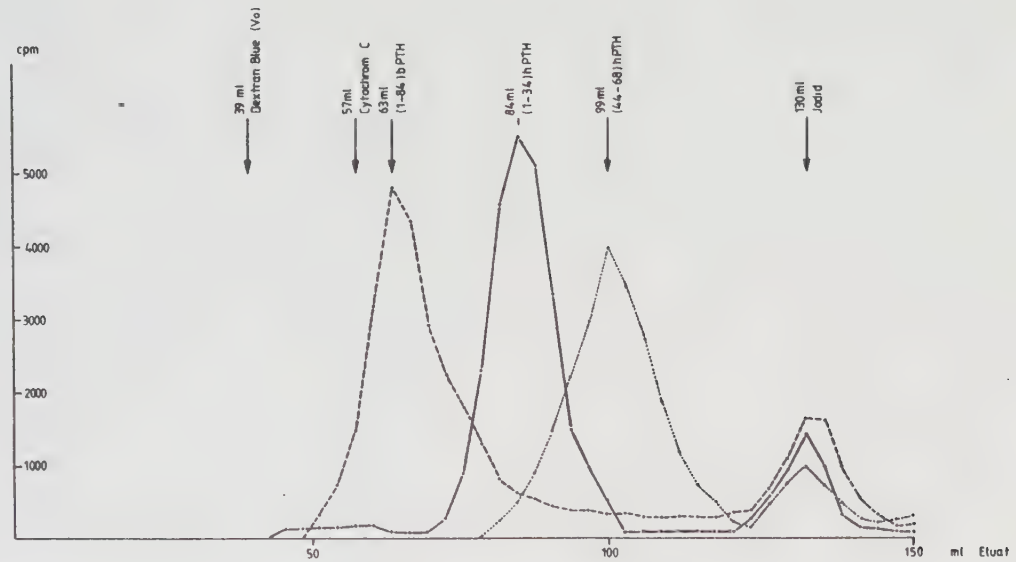


Abbildung 6: Eichung der Säulenchromatographiesäule Sephadex G 50 fine (35 cm x 2,5 cm)

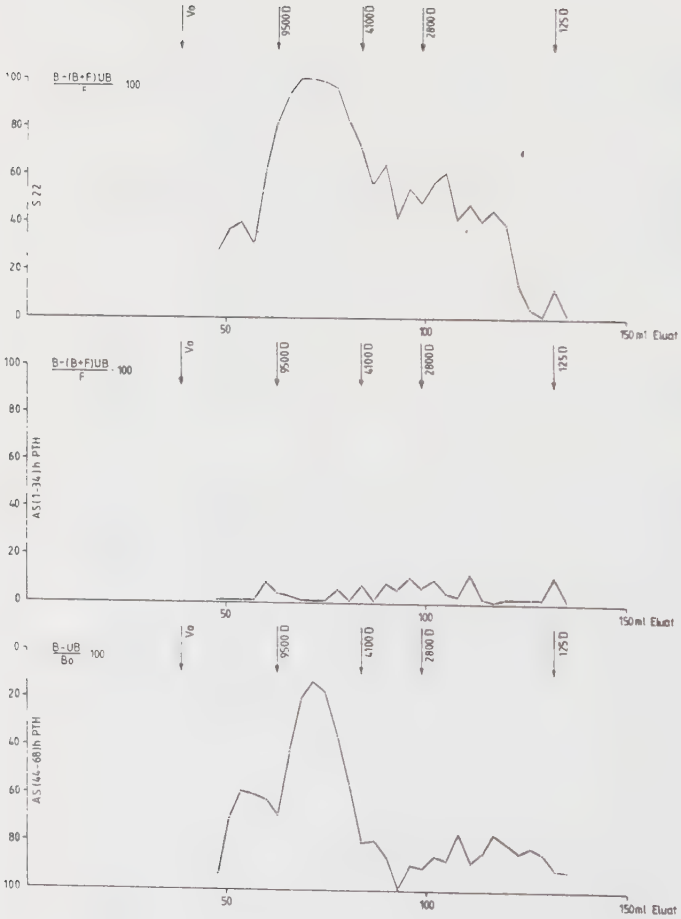


Abbildung 7: Säulenchromatographie eines Serums von einem Patienten mit primärem HPT;
Parathormonbestimmung in den Eluaten mit den Testsystemen S 22, AS(1-34) und AS(44-68)

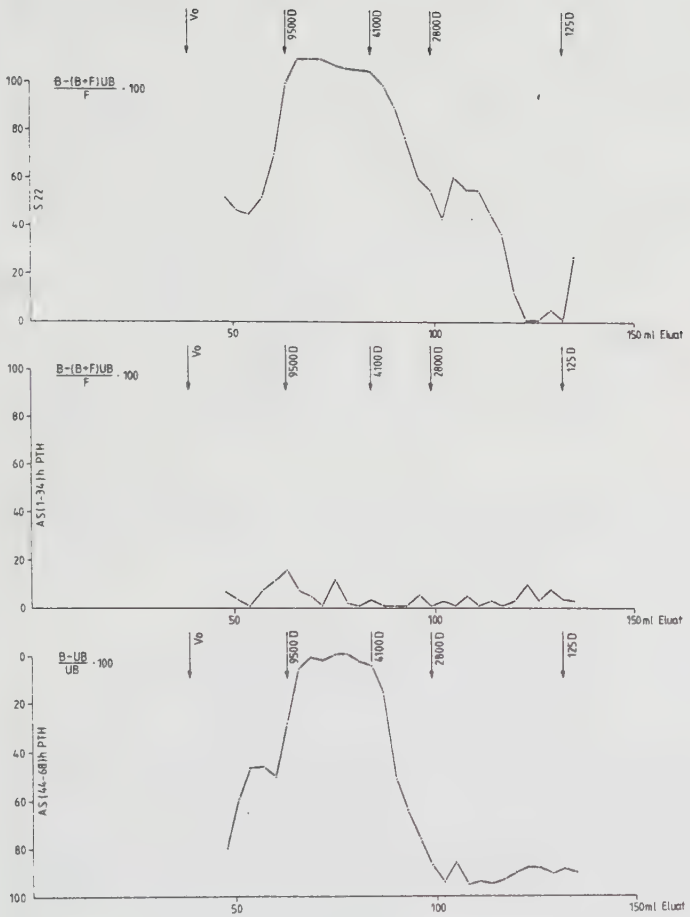


Abbildung 8: Säulenchromatographie eines Serums von einem Patienten mit sekundärem HPT bei terminaler NI; Parathormonbestimmung in den Eluaten mit den Testsystemen S 22, AS(1-34) und AS(44-68)

Systemen S 22 und AS(44-68) meßbaren PTH-Maxima kleiner und schmaler als vor der Operation.

c) Nach Auftrennung der Seren von Patienten im terminalen Stadium der Niereninsuffizienz und CAPD-Therapie kann in keinem der drei Meßsysteme eine eindeutige Aussage darüber gemacht werden, welche PTH-Fragmente sich unter dieser Therapie im Serum anreichern oder aus dem Serum eliminiert werden. Die wiederum nur in den Meßsystemen S 22 und AS(44-68) meßbaren PTH-Fragmente weisen praktisch keine Unterschiede auf, d.h. die Konzentration der einzelnen PTH-Fragmente ist über den gesamten Meßbereich von ca. 9500 bis 1000 Dalton nahezu konstant.

Die Ergebnisse der Gelfiltration zeigen, daß in keinem der untersuchten Fälle eine eindeutige Aussage über die Verteilung der PTH-Fragmente zulässig ist, da sich mit den Systemen S 22 und AS(44-68) vorrangig nur die großmolekularen PTH-Fragmente messen lassen. Auch durch den zusätzlichen Einsatz der beiden fragmentspezifischen Assays konnten die entsprechenden Fragmente nicht nachgewiesen werden.

3.6 Nierentransplantation - Perioperative Verläufe

An zehn Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz, die im Februar und März 1980 an der Medizinischen Hochschule Hannover (Abteilung für Abdominal- und Transplantationschirurgie; Leiter Prof. Dr. R. Pichlmayer) nierentransplantiert wurden, konnte der perioperative Verlauf der PTH-Werte untersucht werden. Das Alter der Patienten lag zwischen 23 und 56 Jahren (Mittelwert: 40 Jahre) und die Dialysedauer vor der Transplantation betrug 20 Monate bis 8 Jahre, im Mittel vier Jahre und 2 Monate. Die PTH-Bestimmung erfolgte praeoperativ sowie an den postoperativen

Tagen 1, 3, 5 und 10. Die Funktion der Transplantate wurde mit dem Blutbild und den üblichen Laborwerten Natrium, Kalium, Calcium, anorg. Phosphat, Harnstoff, Kreatinin und endogener Kreatininclearance kontrolliert. Von diesen Parametern wurde das Kreatinin als Nierenfunktionskontrollwert mit den PTH-Werten verglichen. Folgende medikamentöse Therapie wurde nach jeder Nierentransplantation schematisch bei jedem Patienten durchgeführt:

1 g Prednisolon i.v. am Ende der Operation
1 g Prednisolon i.v. am 1. postoperativen Tag
3 x 50 mg Imurek pro Tag oral
100 mg Decortin H oral vom 1. bis zum 4. Tag
80 mg Decortin H oral vom 4. bis zum 6. Tag
60 mg Decortin H oral vom 6. bis zum 10. Tag

Weitere therapeutische Maßnahmen richteten sich nach dem individuellen Verlauf.

Ergebnisse:

Klinik: In fünf der zehn Fälle mußte das Tansplantat nach einem Zeitraum von zehn Tagen bis fünf Monaten postoperativ entfernt werden. Die Gründe für die Nephrektomie waren Abstoßungsreaktionen oder Funktionseinstellung des Transplantates. Von den erfolgreich transplantierten Organen zeigten vier Nieren eine gute Primärfunktion, die sich allerdings bei einem Patienten (Th.) zunehmend verschlechterte. In einem weiteren Fall (Pat. Sch.) konnte nach einer anfangs verzögerten Funktonsaufnahme im weiteren Verlauf eine gute Transplantatfunktion erhalten werden.

Labor: Praeoperativ sowie postoperativ an den Tagen 1, 3, 5 und 10 wurden das Kreatinin und die PTH-Werte (S 22, S 469, AS(44-68), AS(1-34)) bestimmt (Tab.9a, b). Der Verlauf dieser Labordaten ist für zwei

Patienten in den Abbildungen 9a, b aufgezeichnet.

Die PTH-Basalwerte wiesen große Unterschiede zwischen den Patienten auf. Da jedoch nicht die absoluten PTH-Konzentrationen sondern der Verlauf der PTH-Konzentrationen im vorrangigem Interesse der Untersuchung stand, wurden die praeoperativ gemessenen PTH-Basalwerte eines jeden Patienten gleich 100 % gesetzt und die im postoperativen Verlauf gemessenen PTH-Werte prozentual auf den Basalwert bezogen. Von den absoluten und prozentualen Werten wurden an jedem Tag und in jedem Testsystem die Mittelwerte und Standardabweichung aller zehn Patientendaten berechnet und in den Tabellen 9a, b aufgelistet. Der Kreatininmittelwert (Normbereich s. Tab.: 3) des Gesamtkollektivs liegt praeoperativ bei 967 µmol/l (SD:386 µmol/l) und nimmt nach der Transplantation kontinuierlich auf 563 µmol/l (SD:511 µmol/l) ab (Tabelle 10). Der PTH-Verlauf des Gesamtkollektivs zeigt für die Testsysteme S 22 und S 469 zwei fast parallele Kurven, die von 100 % auf 31 % = 872 µl/l (S 22) bzw. 61,5 % = 1151 µl/l (S 469) am zehnten postoperativen Tag abfallen. Auf Grund der hohen Basalwerte von 2000 µl/l = 100 % bedeutet das aber, daß die absoluten Werte noch sehr stark überhöht sind. Die im Testsystem AS(44-68) gemessenen PTH-Werte sind über alle Tage konstant erhöht. Der Verlauf der PTH-Werte im Testsystem AS(1-34) fällt besonders durch den steilen Anstieg am ersten postoperativen Tag (von 100 % auf 163 %) auf. An den nachfolgenden Tagen ist ein Abfallen der PTH-Mittelwerte zu beobachten, der sich jedoch nur bis auf 88 % des Ausgangswertes fortsetzt. Die große Streuung der PTH-Werte zeigt sich in den hohen Standardabweichungen, die sich bei der Mittelwertbildung aller Testsysteme finden.

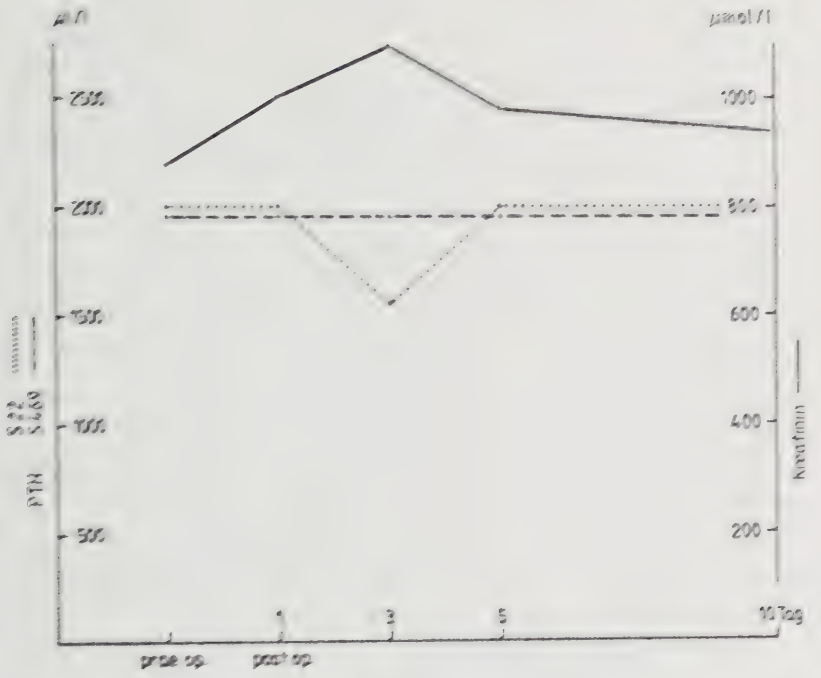
Tabelle 9a: Verlaufskontrolle der PTH-Werte vor und nach Nierentransplantation

Absolute und relative (100%=PTH-Wert praeoperativ)PTH-Messungen, Mittelwert und Standardabweichung von 10 Pat.

Patient	Prae op.		Post op.1.Tag		3. Tag		5. Tag		10. Tag	
(Test: S 22)	/ul/l	%	/ul/l	%	/ul/l	%	/ul/l	%	/ul/l	%
Sch.	2000	100	2000	100	1600	100	2000	100	2000	100
Kil.	2000	100	2000	100	2000	100	2000	100	2000	100
F.	2000	100	1200	60	740	37	760	38	780	39
H.	850	100	760	89	540	63	1000	118	-	-
Die.	2000	100	1600	80	960	47,5	1050	52,5	1250	62,5
Ma.	2000	100	1500	75	800	40	450	22,5	230	11,5
Ma.	400	100	1200	300	270	67,5	290	72,5	245	61,3
Ma.	2000	100	-	-	1900	99,5	750	37,5	240	12
Sch.	640	100	420	66	350	55	650	102	450	70
Kil.	2000	100	850	42,5	1500	75	850	42,5	650	32,5
x	1589	100	1281	101	1065	66	980	69	872	31
SD	670,2	0	547	77	637	22	584	34	718	33
(Test: S 469)										
Sch.	2000	100	2000	100	2000	100	2000	100	2000	100
Kil.	2000	100	2000	100	2000	100	2000	100	2000	100
Hf.	2000	100	2000	100	1250	62,5	2000	100	2000	100
Sch.	2000	100	1900	95	1130	56,5	2000	100	-	-
Die.	2000	100	2000	100	2000	100	2000	100	2000	100
Ma.	2000	100	2000	100	840	42	520	26	260	13
Ma.	1300	100	2000	199	680	52	370	28	320	25
Ma.	2000	100	-	-	2000	100	1100	55	580	29
Sch.	1000	100	480	48	520	52	660	66	440	44
Kil.	2000	100	2000	100	2000	100	2000	100	850	42,5
x	1830	100	1820	99	1442	76,5	1465	77,5	1161	61,5
SD	365,3	0	503,6	26	622,2	25	714,2	31	813,1	39

Tabelle 9b: (Fortsetzung von Tabelle 9a)

Patient	Präe op.		post op. 1. Tag		3. Tag		5. Tag		10. Tag	
Test:AS(44-66)	pg/ml	%	pg/ml	%	pg/ml	%	pg/ml	%	pg/ml	%
1 Gö.	2500	100	2100	84	3400	136	4000	160	6000	240
2 Hil.	3300	100	4800	145	2900	88	2100	64	1000	30
3 Pf.	2700	100	2050	76	1900	70	3100	115	3700	137
4 Th.	2200	100	2000	91	2050	93	2200	100	-	-
5 Wie.	3000	100	3250	107	3000	100	3250	107	4800	160
6 Ha.	6100	100	5400	89	6000	98	6000	98	1150	19
7 Ka.	680	100	1350	199	980	144	870	128	760	112
8 Pa.	2700	100	-	-	2700	100	1700	63	730	27
9 Sch.	1050	100	1000	95	920	88	1550	148	1800	171
0 Wil.	6000	100	4000	67	6000	100	2900	48	2500	42
$\bar{x}$	3023	100	2883	106	2985	102	2767	103	2493	104
SD	1794	0	1556	41	1788	22	1465	37	1926	79
Test:AS(1-34)	ng/ml	%	ng/ml	%	ng/ml	%	ng/ml	%	ng/ml	%
1 Gö.	0,063	100	0,145	230	0,135	214	0,160	254	0,067	106
2 Hil.	0,82	100	1,15	140	1,25	152	1,15	140	0,64	78
3 Pf.	0,083	100	0,105	127	0,052	63	0,14	167	0,18	217
4 Th.	0,11	100	0,01	9	0,035	32	0,091	82	-	-
5 Wie.	0,05	100	0,155	310	0,091	182	0,078	156	0,01	20
6 Ha.	0,35	100	0,90	257	0,32	91	0,1	29	0,11	30
7 Ka.	0,07	100	0,155	220	0,079	113	0,07	100	0,075	107
8 Pa.	0,067	100	-	-	0,135	201	0,067	100	0,060	89
9 Sch.	0,01	100	0,01	100	0,01	100	0,01	100	0,01	100
0 Wil.	0,64	100	0,46	72	0,37	58	0,155	24	0,155	24
$\bar{x}$	0,23	100	0,34	163	0,25	121	0,20	115	0,145	88
SD	0,28	0	0,41	97	0,37	64	0,34	68	0,19	61



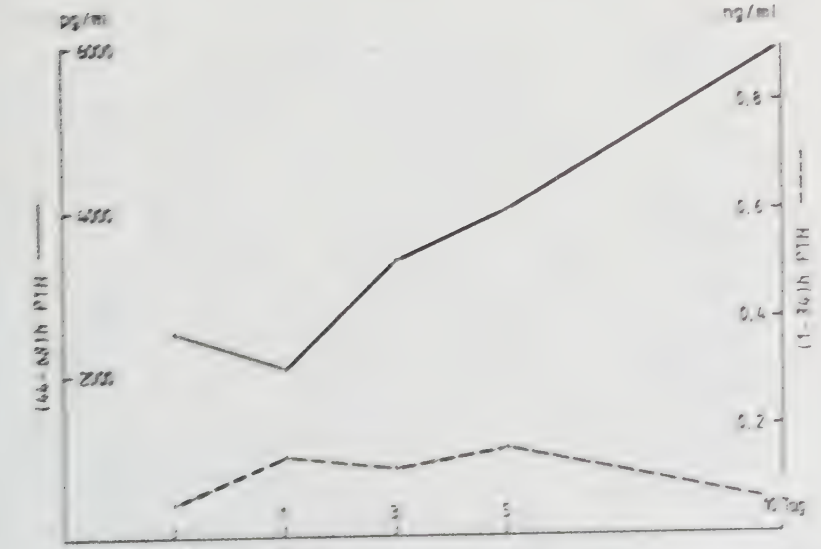


Abbildung 38: Nierenfunktionsparameter - perioperativer Verlauf
Linke Seite: Kreatinin - postoperative Transplantatfunktion

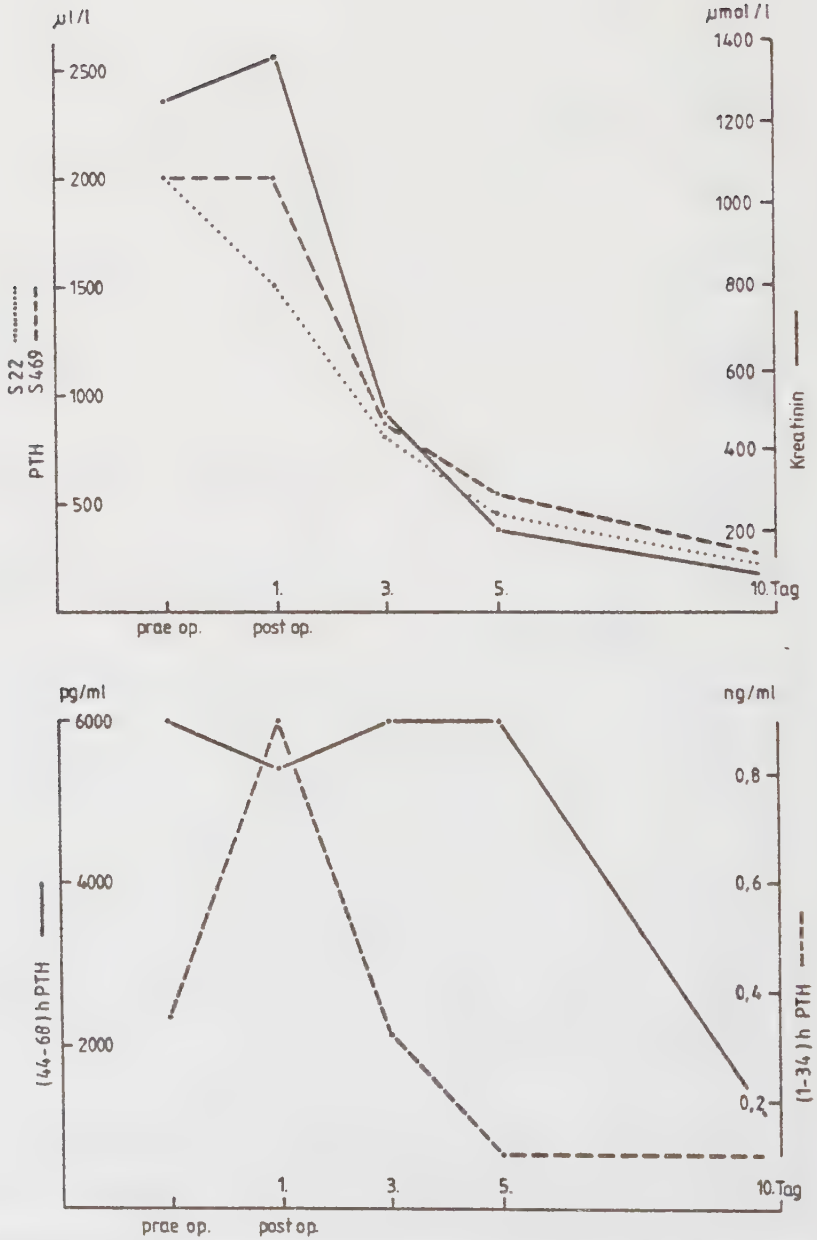


Abbildung 9b: Nierentransplantation - perioperativer Verlauf
Einzelverlauf - primär gute Transplantatfunktion
(Beispiel: Pat. Ha.)
Kreatinin- und Parathormonkonzentrationen

Patient	Prae Op	Post Op 1	Post Op 3	Post Op 5	Post Op 10	weiterer Verlauf
Gö.	875	1020	1090	983	942	Tx nach 1 Monat postoper.
Hil.	966	933	1180	921	822	Tx am 10. postop. Tag
Pf.	1158	1073	872	994	1465	Tx nach 1 Monat postoper.
Th.	1343	521	292	303	190	schlechte Transpl.funkt.
Wie.	469	483	496	691	706	Dialyse ab 5. postoper. Tag Tx 5 Monate postop.
Ha.	1260	1352	490	200	93	gute Primärfunktion
Ka.	680	409	220	91	85	ab 11. postop. Tag Abstoßungs-therapie Tx 1,5 Monate postop.
Pa.	1611	852	674	233	111	gute Primärfunktion
Sch.	402	633	942	980	1112	verzögerte Funktionsaufnahme, dann gute Funktion
Wil.	910	640	164	135	106	gute Primärfunktion
$\bar{x}$	967	792	642	553	563	
SD	386	304	366	394	511	

Tabelle 10: Verlauf der Kreatininwerte bei Nierentransplantation (Mittelwert, Standardabweichung (SD))
Kreatininwerte in µmol/l

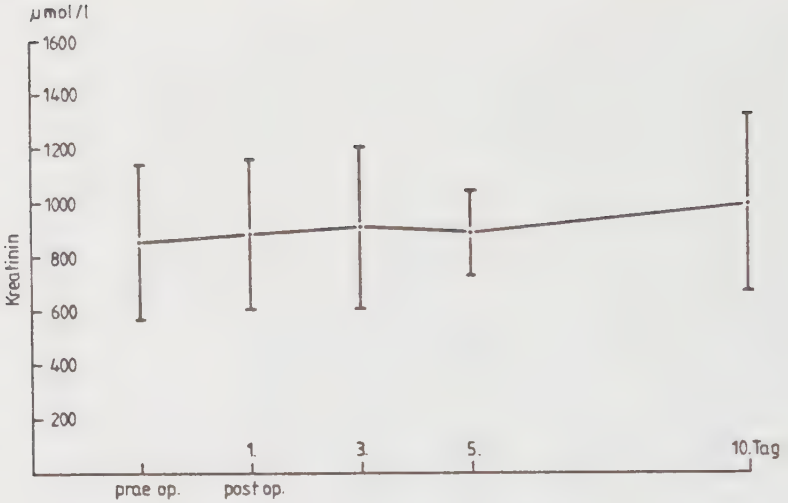
Die Auswertung des Gesamtkollektivs aller Patienten zeigt, daß die Nierentransplantation innerhalb des Zeitraumes von 10 Tagen noch nicht zu einer Normalisierung der Kreatinin- und PTH-Werte geführt hat. Eine, wie oben durchgeführt, pauschale Beurteilung des Gesamtkollektivs scheint jedoch auf Grund des unterschiedlichen klinischen Verlaufs der Transplantationen (s.o.) nicht sinnvoll zu sein. Deshalb wurden die zehn Patienten in drei Untergruppen eingeteilt. In der Gruppe A wurden vier Patienten zusammengefaßt, die an allen zehn postoperativen Tagen eine schlechte Transplantatfunktion aufwiesen, deren Kreatininwerte sich postoperativ im allgemeinen verschlechterte und schließlich Transplantatektomiert werden mußten. Von den vier Patienten (Gö., Hil., Pf., Wie.) wurden Mittelwert und Standardabweichung der absoluten und relativen Werte berechnet, in der Tabelle 11a aufgelistet und in der Abbildung 10a dargestellt. Der klinische Verlauf spiegelt sich in den Kreatinin- und PTH-Verläufen wieder. Das Kreatinin steigt von 867 µmol/l praeoperativ auf 984 µmol/l an, die PTH-Werte (S 22, S 469) verlaufen parallel, wobei die S 469-PTH-Werte unverändert auf 100 % bleiben und die S 22-Werte auf 75,4 % zurückgehen. Im Testsystem AS(44-68) ist ein kontinuierlicher Anstieg von 100 % bis auf fast 142 % festzustellen. Die PTH-Mittelwerte im System AS(1-34) steigen am ersten Tag postoperativ auf 202 % an und bleiben während des gesamten Beobachtungszeitraumes oberhalb des Basalwertes.

Die Gruppe B wurde aus drei Patienten (Ha., Pa., Wil.) gebildet, deren Transplantat eine gute Primärfunktion aufwies und deren Kreatininwerte am zehnten postoperativem Tag fast im Normbereich lagen. Der Verlauf der Kreatininwerte zeigt einen rapiden Abfall von 1260 µmol/l praeoperativ auf 103 µmol/l am zehnten Tag. In gleicher Weise nehmen die PTH-Werte ab. In den Systemen S 22 und S 469 reduziert sich

Test	prae Op	post Op 1	post Op 3	post Op 5	post Op 10
S 22 (ul/l)	2000	1700	1325	1453	1211
SD	0	393	579	643	957
%	100	80	71,1	72,6	75,4
SD(%)	0	23	33,6	32	30
S 469 (ul/l)	2000	2000	1813	2000	2000
SD	0	0	375	0	0
%	100	100	90,6	100	100
SD(%)	0	0	18,8	0	0
AS(44-68) (pg/ml)	2875	3050	2800	3113	3875
SD	350	1291	638	781	2134
%	100	103	98,5	111,5	141,8
SD(%)	0	30,9	27,9	39,3	86,6
AS(1-34) (ng/ml)	0,25	0,39	0,38	0,39	0,22
SD	0,37	0,51	0,58	0,51	0,28
%	100	202	152,8	179,3	105
SD(%)	0	85	65	51,1	83
Kreatinin (umol/l)	867	877	909	897	984
SD	290	269	304	141	345

Tabelle 11a: Nierentransplantation - Gruppe A (Pat. Gö., Hil., Pf., Wie.); (schlechte Transplantatfunktion)

Mittelwert, Standardabweichung (SD)



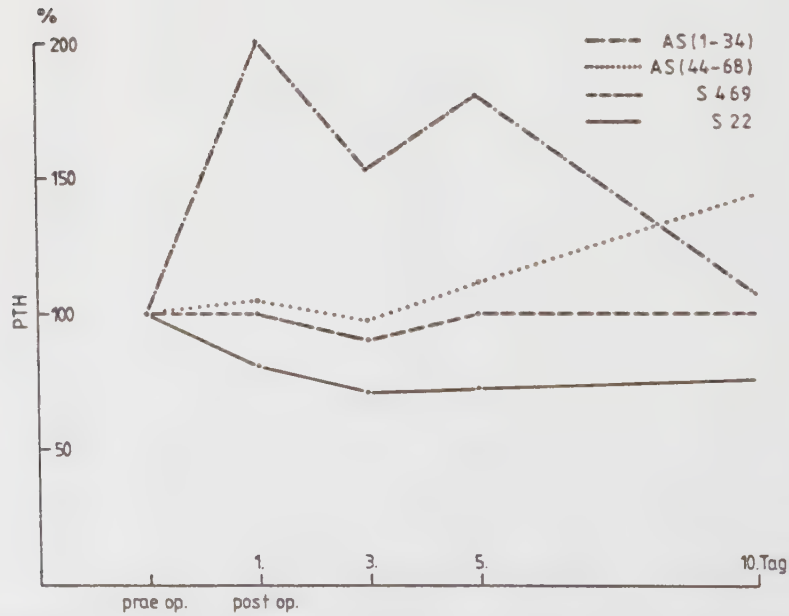
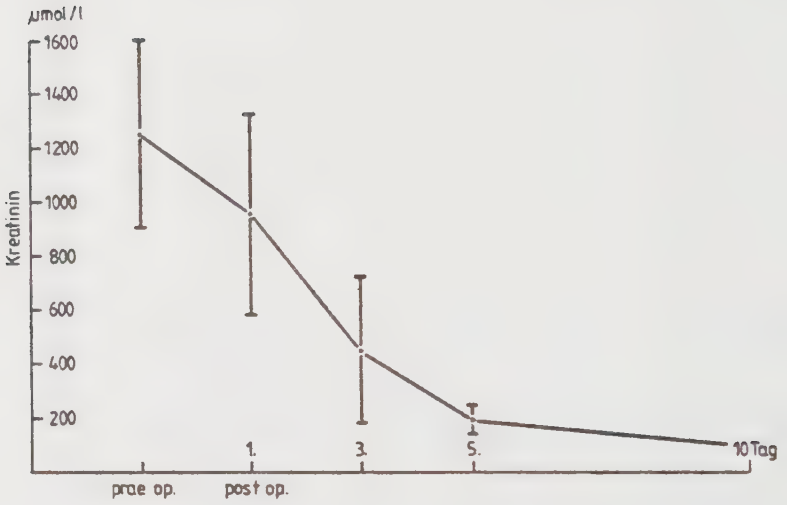


Abbildung 10a: Nierentransplantation - perioperativer Verlauf Gruppe A (schlechte Transplantatfunktion)
Mittelwerte (n = 4) der Kreatininkonzentration und des prozentualen Parathormons

Test	prae Op	post Op 1	post op 3	post op 5	post op 10
S 22 (ul/l)	2000	1175	1400	683	373
SD	0	460	557	208	239
%	100	58,8	71,5	34,1	18,7
SD(%)	0	23	30	10,4	12
S 469 (ul/l)	2000	2000	1613	1206	563
SD	0	0	670	745	295
%	100	100	80,7	60,3	28,1
SD(%)	0	0	33,5	37,5	14,8
AS (44-68) (pg/ml)	4933	4700	4900	3533	1460
SD	1934	990	1905	2218	925
%	100	78	99,3	69,7	29,3
SD(%)	0	15,6	1,2	25,7	11,7
AS (1-34) (ng/ml)	0,35	0,68	0,28	0,11	0,11
SD	0,29	0,31	0,12	0,04	0,05
%	100	164	117	51	47,7
SD(%)	0	131	75	42,5	36
Kreatinin (umol/l)	1260	948	443	189	103
SD	351	366	258	50	9

Tabelle 11b: Nierentransplantation - Gruppe B (Pat.: Ha., Pa., Wil.); (primär gute Nierentransplantatfunktion)

Mittelwert, Standardabweichung (SD)



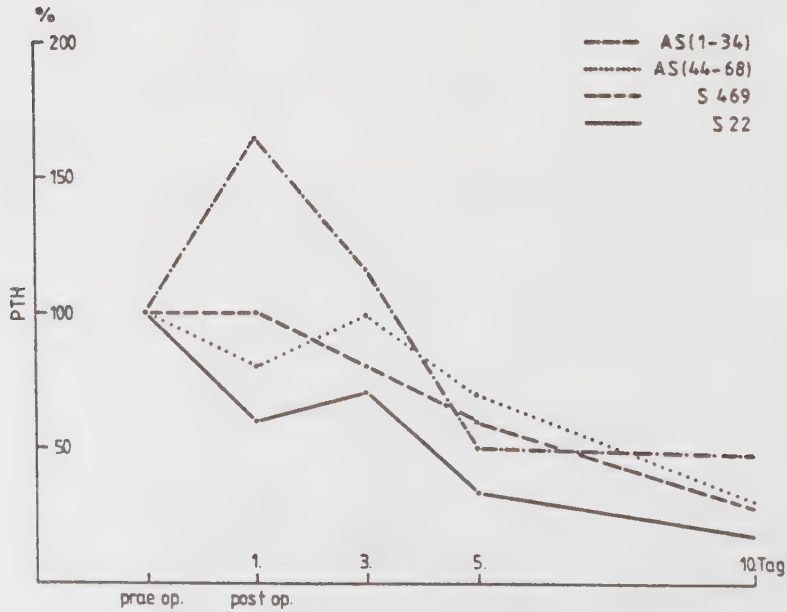


Abbildung 10b: Nierentransplantation - perioperativer Verlauf
Gruppe B (primär gute Transplantatfunktion)
Mittelwerte (n = 3) der Kreatininkonzentrat...

das PTH auf 18,7 % = 373 µl/l (S 22) bzw. auf 28,1 % = 563 µl/l (S 469) sowie auf 29,3 % = 1460 pg/ml (AS(44-68)) und auf 47,7 % = 0,11 ng/ml im System AS(1-34). Wiederum ist im System AS(1-34) der PTH-Anstieg am ersten postoperativem Tag bemerkenswert. Zwar ist nur im System AS(1-34) eine Normalisierung der absoluten PTH-Werte festzustellen, doch lassen auch die anderen PTH-Mittelwerte eine deutliche Reduzierung erkennen (Tabelle 11b, Abbildung 10b).

Die drei übrigen Patientenverläufe ließen sich in keine übergeordnete Gruppe einordnen. Die Patienten Ka. und Th. zeigten beide eine gute Primärfunktion des Transplantats, was auch an dem sich normalisierenden Kreatinin zu verfolgen ist, jedoch kam es bei dem Patienten Ka. im weiteren Verlauf zu einer Abstoßungsreaktion ab Tag elf postoperativ und nach 1,5 Monaten zur Transplantatektomie.
In allen vier Testsystemen ist ein Ansteigen der PTH-Werte auf 200-300 % am ersten postoperativem Tag und danach ein nahezu paralleles Abfallen der Werte zu beobachten. Nur im System S 469 werden mit 25 % am zehnten Tag Werte gemessen, die deutlich unter dem Basalwert liegen.

Bei dem Patienten Th. arbeitete das Transplantat nach dem Beobachtungszeitraum nur noch mit einer verminderten Funktion weiter. Die PTH-Verläufe zeigen ein paralleles Verhalten. Nach einer Abnahme, die stärker in den Testsystemen S 22 und S 469 ausgebildet ist als in AS(44-68) oder AS(1-34), nehmen die PTH-Werte in den folgenden postoperativen Tagen 3 - 5 bis auf die Höhe des Basalwertes zu. Der 10. postoperative Tag konnte aus Materialmangel nicht untersucht werden.

Der zehnte Patient des Gesamtkollektivs (Sch.) zeigte klinisch eine verzögerte Funktionsaufnahme des Transplan-

tats, was auch am Verlauf des Kreatinins erkennbar ist. Nach dem Beobachtungszeitraum stellte sich eine gute Transplantatfunktion ein. Der Verlauf der PTH-Werte zeigt große Unterschiede zwischen den verschiedenen Testsystemen. Während die PTH-Werte in S 22 und S 469 bis auf einen Zwischenanstieg am fünften postoperativen Tag gleichmäßig zurückgehen, liegt der Meßwert im System AS(1-34) an allen Tagen an der unteren Grenze der Meßbarkeit von 0,01 ng/ml. Im Gegensatz dazu ist im System AS(44-68) vom fünften postoperativen Tag an ein Anstieg der PTH-Konzentration weit über den Basalwert hinaus zu beobachten (171%).

3.7 Assaystatistik

Für die Testsysteme S 469 und S 478 wird auf die in der Literatur ausführlich dargestellten Assaystatistiken verwiesen (Hehrmann, 1980). Für die übrigen Assaysysteme wurden aus den durchgeführten Assays Mittelwerte und Standardabweichungen der Standardpunkte berechnet und in den Tabellen 12 a-c bzw. Abbildungen 11 a-c dargestellt.
Aus der Standardabweichung und den Mittelwerten lassen sich für jeden Standardpunkt die Variationskoeffizienten von B/B_o bestimmen. Sie liegen für das Testsystem S 22 zwischen 8,1 und 22,7 %, für AS(1-34) zwischen 15,3 und 61,9 % sowie für das Testsystem AS(44-68) zwischen 8,3 und 32,3%. In den Abbildungen sind für jeden Standardpunkt der Mittelwert von B/B_o aus allen Messungen und die dazugehörende Standardabweichung eingezeichnet.

Weiterhin wurden für die drei Testsysteme die Intra- und Interassayvarianz für Doppelbestimmungen mit der Formel nach Payne berechnet. Zugrundegelegt wurden jeweils vier Assays jedes Testsystems. Von den Standardpunkten wurde

die Differenz der Doppelbestimmungen (B/B_o x 100) gebildet und die erhaltenen Differenzen D 1 - D 4 nebeneinander aufgelistet. Aus den so erhaltenen Tabellen 12 a-c konnte durch Anwendung der Payne'schen Formel horizontal die Interassayvarianz eines Standardpunktes und vertikal die Streuung der Standardpunkte innerhalb eines Assays (Intraassayvarianz) ermittelt werden. Die Interassayvarianz für Doppelbestimmungen liegt im Testsystem S 22 zwischen 1,16 und 10,9 % B/B_o, im Testsystem AS(1-34) zwischen 2,50 und 5,60 % B/B_o sowie im Testsystem AS(44-68) zwischen 1,06 und 3,38 % B/B_o. Die Intraassayvarianz für Doppelbestimmungen schwankt im Testsystem S 22 zwischen 1,64 und 7,56 % B/B_o, im Testsystem AS(1-34) zwischen 3,22 und 4,47 % B/B_o und schließlich im Testsystem AS(44-68) zwischen 1,84 und 2,59 % B/B_o.

Nr.	U_B (%)	B_o (%)	B / B_o (%)							
			10	20	40	100	200	400	1000	2000
			Standardkonzentration (µl $P_{2/3}$ / l)							
1	16,5	22,7	90,7 114,5	87,2 87,7	92,5 76,7	67,4 75,8	47,1 50,2	26,9 28,2	21,6 18,1	14,1 16,3
2	6,0	54,0	106,6 108,1	104,4 97,8	96,9 99,6	80,0 85,3	56,6 59,2	29,5 26,7	14,6 16,7	11,7 10,6
3	10,9	18,3	113,1 100,0	74,4 104,4	86,3 90,7	73,8 72,1	71,1 39,9	30,6 27,9	14,2 13,7	12,0 8,2
4	20,3	51,5	93,0	88,9	80,0	61,0	33,4	23,3	17,1	16,9
5	10,9	26,7	99,3	102,2	91,4	64,4	40,1	22,8	16,9	13,9
6	9,0	30,1	91,0	93,0	84,1	64,5	36,5	23,3	14,0	15,3
7	9,5	18,7	89,9	88,8	88,2	55,1	34,8	25,9	20,8	10,7
$\bar{X}$	11,9	31,7	100,6	92,9	88,6	69,9	43,0	26,5	16,8	13,0
SD	4,9	15,0	9,5	9,5	7,1	9,2	9,8	2,8	2,8	2,8
Variations-koeffizient			9,4	10,2	8,1	13,1	22,7	10,4	16,6	21,5

Tabelle 12a: Assaystatistik; Testsystem S 22

Mittelwerte, Standardabweichung und Varianz der Standardpunkte

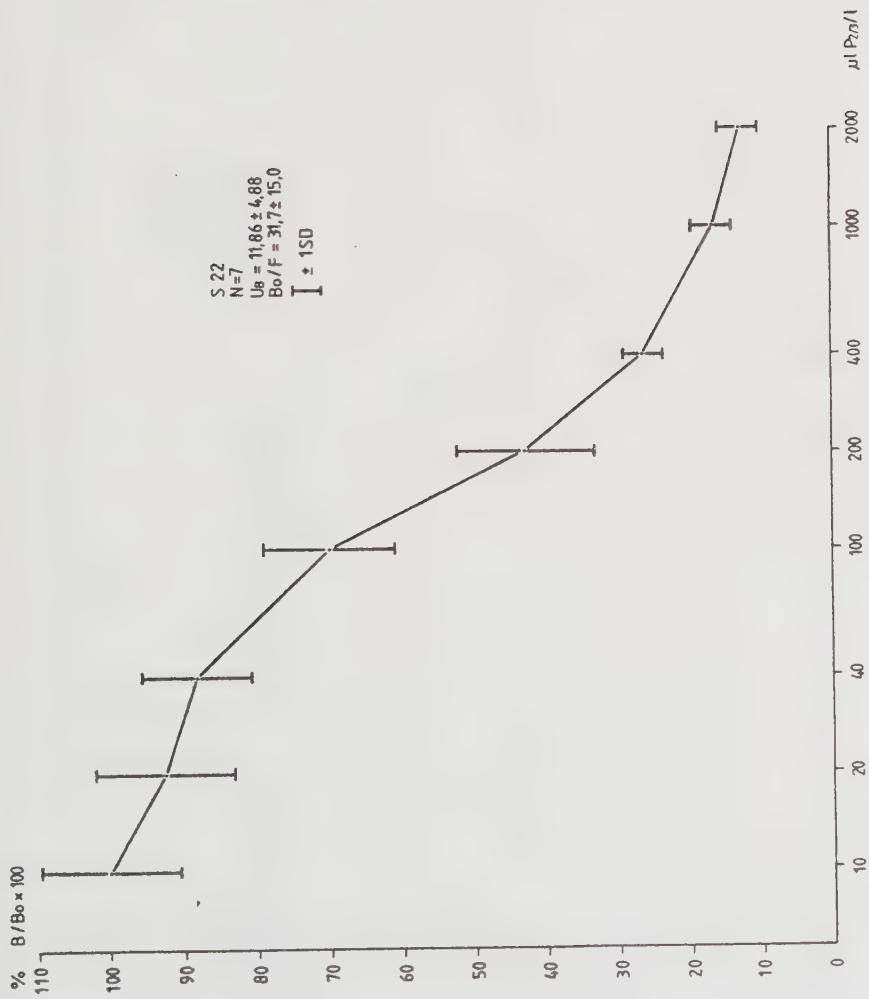


Abbildung 11a: Testsystem S 22
Darstellung von Mittelwert und Standardabweichung der Standardpunkte aus 7 Assays

Nr.	U_B (%)	B_o (%)	B / B_o (%)									
			0,0195	0,039	0,078	0,156	0,31	0,625	1,25	2,5	5,0	10,0
			Standardkonzentration (ng / ml)									
1	4,5	11,4	125,4 124,6	106,1 113,2	118,4 106,0	97,4 96,5	86,0 88,6	66,7 67,5	52,6 45,6	29,8 32,4	22,8 13,2	12,3 6,1
2	4,15	11,7	87,2 94,9	79,5 71,8	81,2 75,2	68,4 77,8	64,1 53,8	51,3 48,7	29,9 29,9	19,7 14,5	10,3 6,0	2,5 1,7
3	2,5	12,1	84,3	83,5	76,9	71,9	57,0	50,4	33,1	24,8	19,0	10,7
4	3,0	15,7	90,4	86,0	84,1	70,1	78,3	52,2	35,7	23,6	21,0	8,9
$\bar{x}$	3,54	12,7	101,3	90,0	90,3	80,4	71,3	56,1	39,4	24,1	15,4	7,0
SD	0,94	2,0	18,8	16,1	17,7	13,2	15,0	8,6	9,4	6,5	6,6	4,4
Variations-koeffizient			18,6	17,8	18,9	16,5	21,0	15,3	23,9	27,1	42,9	61,9

Tabelle 12 b: Assaystatistik; Testsystem AS(1-34) hPTH

Mittelwerte, Standardabweichung und Varianz der Standardpunkte

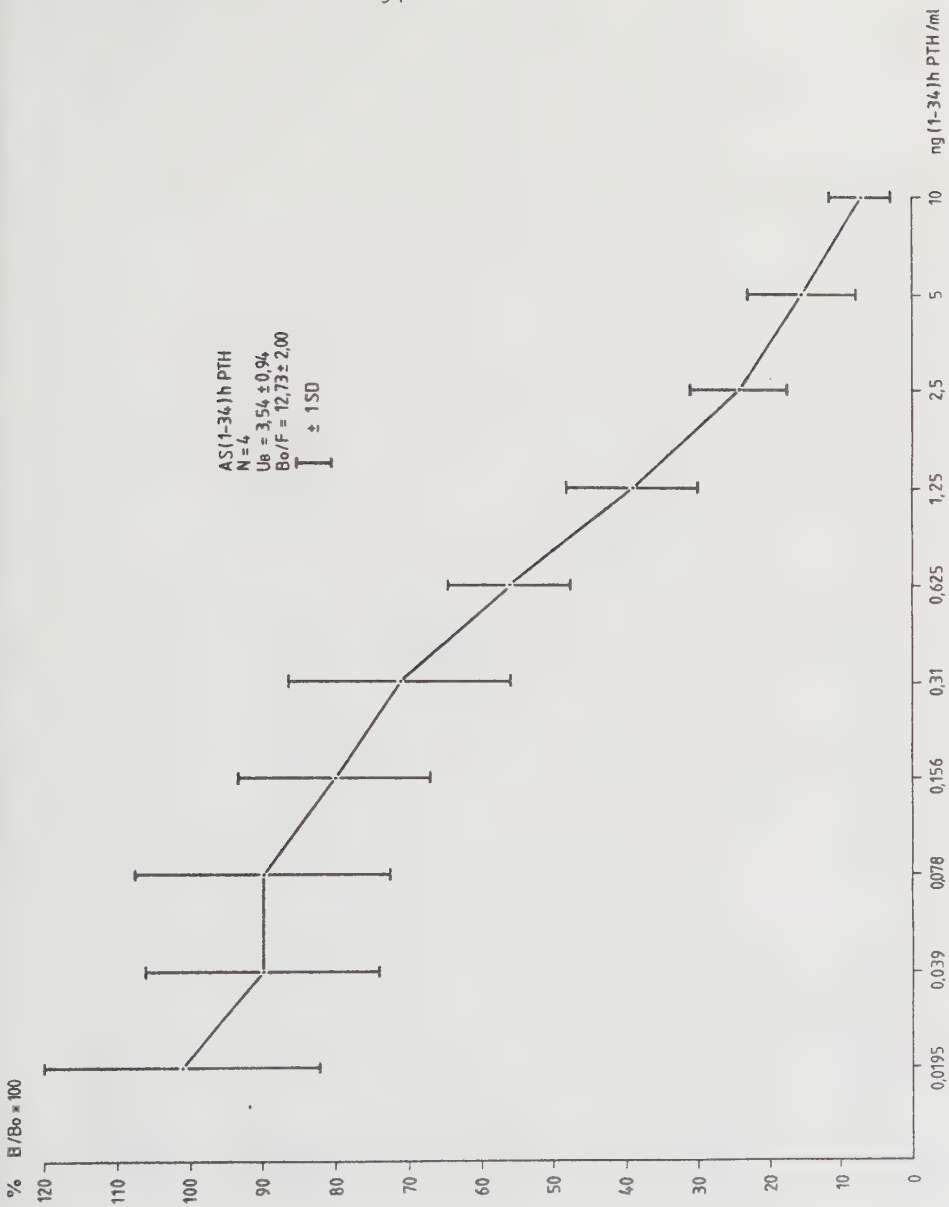


Abbildung 11b: Testsystem AS(1-34) hPTH
Darstellung von Mittelwert und Standardabweichung
der Standardpunkte aus 4 Assays

			78	156	312,5	625	1250	2500
			Standardkonzentration (pg / ml)					
1	0,52	23,7	82,9	76,1	53,2	23,8	9,1	5,9
			84,4	72,6	46,7	21,4	8,9	5,9
2	1,4	18,1	89,4	77,4	72,3	40,5	20,5	7,2
			83,4	87,8	67,4	46,5	20,8	7,9
3	1,2	20,2	86,5	80,9	67,2	40,3	24,7	8,0
			88,1	79,1	67,4	43,5	20,3	10,3
4	1,1	12,5	74,2	68,4	65,0	38,3	21,9	12,2
			80,4	72,9	63,1	39,6	22,6	12,5
5	1,5	10,0	107,7	77,4	76,3	39,6	17,5	6,0
			79,3	78,7	61,2	43,0	14,7	5,3
6	1,5	21,9	-	72,7	57,1	30,5	17,1	8,0
			-	80,5	54,4	29,0	16,4	5,9
7	1,6	18,8	80,8	69,9	56,7	36,0	18,1	9,7
			77,9	62,3	59,0	34,8	20,7	9,7
8	1,6	13,2	102,7	83,6	65,7	40,3	23,5	14,4
			96,8	80,4	65,8	44,3	20,1	11,6
$\bar{X}$	1,2	17,3	85,9	75,9	61,5	36,0	18,0	8,6
SD	0,5	4,9	9,8	6,3	8,3	8,1	5,1	2,3
Variations-koeffizient:			11,6	8,3	11,0	13,2	28,2	32,3

Tabelle 12 c: Assaystatistik; Testsystem AS(44-68) hPTH

Mittelwerte, Standardabweichung und Varianz der Standardpunkte

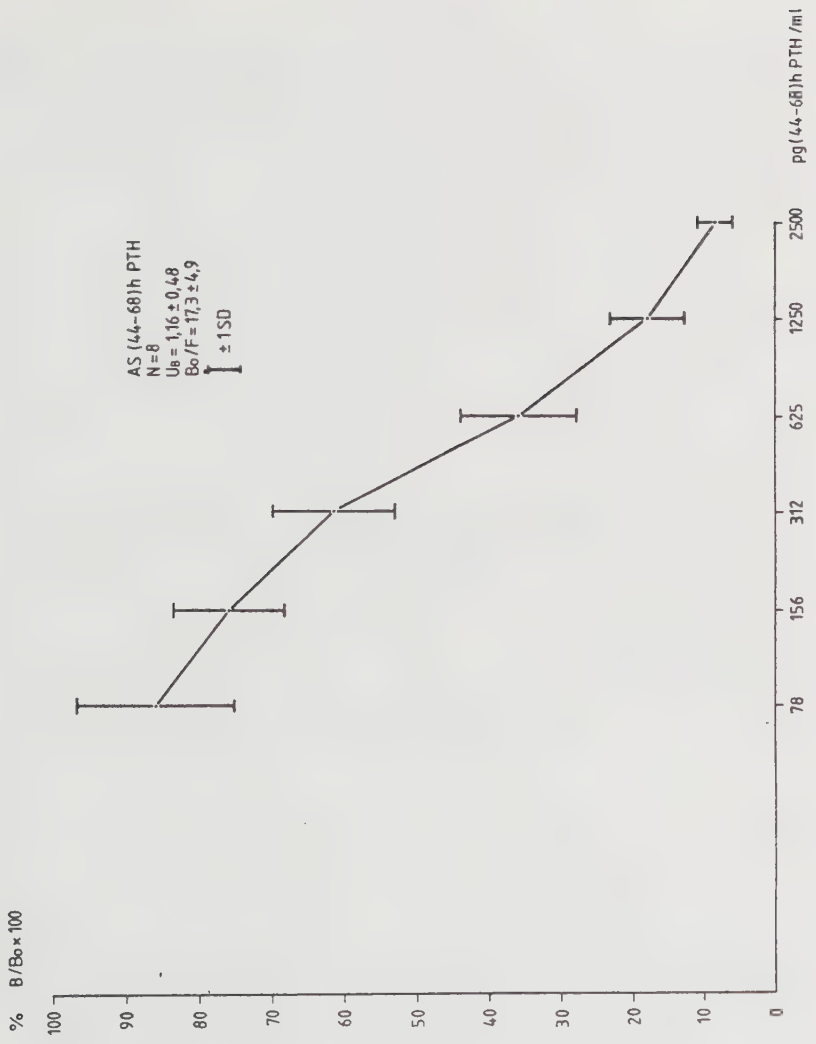


Abbildung 11c: Testsystem AS(44-68) hPTH
Darstellung von Mittelwert und Standardabweichung
der Standardpunkte aus 8 Assays

Standard (µl/l)	D 1	D 2	D 3	D 4	Interassay-varianz (%)
10	23,8	2,7	13,1	3,2	9,67
20	0,5	6,6	30,1	1,1	10,90
40	15,8	2,7	4,4	0,2	5,88
100	8,4	5,3	1,7	1,8	3,62
200	3,1	2,6	8,2	4,4	3,47
400	1,7	2,8	2,7	2,6	1,76
1000	3,5	2,1	0,5	0,8	1,48
2000	2,2	1,1	1,8	1,2	1,16
Intra-assay-varianz (%)	7,56	2,58	8,58	1,64	

Tabelle 13 a: Assaystatistik; Testsystem S 22
Inter- und Intraassayvarianz

Standard (ng/ml)	D 1	D 2	D 3	D 4	Interassay-varianz (%)
0,0195	1,6	10,1	0,8	7,7	4,53
0,039	1,7	3,8	7,1	7,7	3,98
0,078	3,3	2,6	12,4	6,0	5,09
0,156	8,2	2,5	0,9	9,4	4,51
0,31	9,9	6,3	2,6	10,3	5,60
0,625	8,2	3,8	0,8	2,6	3,34
1,25	0,0	1,3	7,0	0,0	2,52
2,5	3,3	2,5	2,6	5,2	2,52
5,0	5,0	3,8	9,6	4,3	4,33
10,0	3,3	0,0	6,2	0,8	2,50
Intra-assay-varianz (%)	3,82	3,22	4,47	4,47	

Tabelle 13 b: Assaystatistik; Testsystem AS(1-34) hPTH
Inter- und Intraassayvarianz

Standard (pg/ml)	D 1	D 2	D 3	D 4	Interassay-varianz (%)
78	1,6	5,8	2,9	5,9	3,15
156	1,8	4,5	7,6	3,2	3,38
312,5	0,2	1,9	2,3	0,1	1,06
625	3,2	1,3	1,2	4,0	1,92
1250	4,4	0,7	2,6	3,4	2,18
2500	2,3	0,3	0,0	2,8	1,23
Intra-assay-varianz (%)	1,84	2,23	2,58	2,59	

Tabelle 13 c: Assaystatistik; Testsystem AS(44-68) hPTH
Inter- und Intraassayvarianz

4. Diskussion

Die Kontrolle des PTH-Spiegels dialysepflichtiger, terminal niereninsuffizienter Patienten wird mit zunehmender Häufigkeit zur Verlaufsdiagnostik des renalen HPT bzw. der renalen Osteopathie herangezogen. Dieses Vorgehen erscheint jedoch nur dann gerechtfertigt, wenn gezeigt werden kann, daß zwischen den klinischen Befunden der renalen Osteopathie und den gemessenen PTH-Werten eine positive Korrelation besteht.

Der überwiegende Teil der heute gängigen PTH-Messungen erfolgt mit PTH-Radioimmunoassays, die den mittelregionalen und den C-terminalen Anteil der PTH-Sequenz messen, d.h. mit Testsystemen, die vor allem biologisch inaktives PTH messen. Erst in den letzten Jahren ist es gelungen, homologe N-terminale PTH-Assays zu entwickeln (z.B. Zanelli et al., 1980). Diese Assays messen zwar biologisch aktives (1-34) hPTH, erscheinen aber nach einer 1976 durchgeführten Studie der European PTH Study Group (EPSG) für die Diagnostik des Hyperparathyreoidismus ungeeignet (EPSG, 1978).

Die Problematik der Beurteilung des zumeist stark erhöhten PTH-Spiegels bei terminaler Niereninsuffizienz besteht in der unterschiedlichen quantitativen Verteilung von biologisch aktivem und inaktivem Hormon. Viele Untersuchungen haben gezeigt, daß hohe PTH-Konzentrationen bereits bei einer glomerulären Filtrationsrate unter 50-60 ml/min zu finden sind, und daß ca. 90% aller terminal niereninsuffizienter Dialysepatienten erhöhte PTH-Konzentrationen in den PTH-Assays haben, die mittelregionale und C-terminale Fragmente messen. Die Ursache liegt darin, daß die erhöhten PTH-Werte vorwiegend durch verzögerte Abbau- und Eliminationsprozesse (80%) und nur zu 20 % durch Mehrsekretion zustande kommen (Freitag et al., 1980), und somit die

biologisch inaktiven mittelregionalen und C-terminalen Abbaufragmente besonders stark kumulieren. Im Gegensatz zu den hohen PTH-Werten haben aber ein deutlich geringerer Prozentsatz dieser Patienten klinische, laborchemische, röntgenologische und histologische Hinweise auf einen renalen PTH. Das bedeutet, daß die mit mittelregionalen und C-terminalen Assays gemessenen hohen PTH-Werte, die durch die Kumulation der biologisch inaktiven Fragmente bedingt sind, nicht mit den klinischen Ausprägungen eines renalen HPT bzw. einer renalen Osteopathie korrelieren müssen (Hehrmann, 1982), da mit diesen Testsystemen die glanduläre Mehrsekretion des biologisch aktiven Hormons nicht sicher erfaßt werden kann.

Bei der Lösung dieses Problems kann eine säulenchromatographische Auftrennung des Serums von Nutzen sein, um in den Eluatfraktionen quantitative Aussagen über die Verteilung von biologisch aktivem (intaktem oder N-terminalen) Hormon und biologisch inaktiven Fragmenten zu machen.

4.1 Methodik

4.1.1 Assaysysteme

Im Rahmen dieser Arbeit kamen die drei "heterologen" Testsysteme mit dem Tracer ^{125}J-(1-84)bPTH und den Schafsantiseren S 22, S 469 und S 478 sowie den "homologen" Fragmentassays AS(1-34) und AS(44-68) als radioimmunologische Testverfahren zur Anwendung. Wie die Assaystatistik zeigt, weisen die S 22- und AS(44-68)-Assays eine gute Präzision und Empfindlichkeit auf, die mit der vieler anderer Proteohormonassays vergleichbar ist. Beide Assays - besonders aber der von der Fa. HENNING entwickelte (44-68)hPTH-RIA Kit - weisen eine gute Praktikabilität auf und sind ausreichend verfügbar.

Mit dem AS(44-68)PTH-Assay ist der PTH-Normbereich zuverlässig meßbar, ein Kriterium, das mit den anderen hier zum Einsatz gekommenen Assays nicht immer zu erfüllen war, da sich bei diesen Assays die Normwerte an der unteren Grenze des Meßbereichs befinden.

Als Nachteil wurde empfunden, daß die bei dem Krankheitsbild der terminalen Niereninsuffizienz fast regelmäßig zu beobachtenden hohen PTH-Werte mit den Systemen S 22 und AS(44-68) nicht differenziert meßbar waren, da die Meßwerte oft an oder oberhalb der oberen Grenze des Meßbereichs lagen. Im Serum solcher Patienten konnten dagegen mit dem AS(1-34)PTH-Assay noch differenzierte Meßwerte erhalten werden (vgl. Tab. 2a-d). Verglichen mit den anderen Testsystemen weist der AS(1-34)PTH-Assay jedoch eine schlechtere Präzision und größere Streuung auf. Bezogen auf den Normbereich ist die Empfindlichkeit dieses Tests deutlich vermindert, was daran zu erkennen ist, daß viele "Normwerte" nicht mehr meßbar sind. Außerdem ist er den anderen Tests an Praktikabilität unterlegen. Hier ist neben der Verfügbarkeit besonders die Instabilität des Tracers und die daher vor jeder Testdurchführung notwendigen Reinigung des Tracers (siehe Kap. 2.2.1.2) zu nennen.

Die Testsysteme S 469 und S 478 entsprachen in Präzision und Empfindlichkeit der in der Literatur (Hehrmann, 1980) beschriebenen. Da sie im Verlauf dieser Arbeit nur vereinzelt eingesetzt wurden, wird auf eine weiterführende Diskussion an dieser Stelle verzichtet und auf die Literatur verwiesen.

4.1.2 Säulenchromatographie

Die im Ergebnisteil (3.6) dargelegte Problematik der Versuchsplanung und -durchführung zeigt, daß dieses Verfahren für eine klinische Routinediagnostik nicht praktikabel ist. Hierfür sprechen neben den Zeit- und Materialfaktoren, die

für eine Chromatographie sehr groß sind, auch der experimentelle Ablauf. So liegen zwischen dem Auftragen der Serumprobe auf die Säule und dem endgültigen Austesten der Eluate im RIA zu viele Schritte und damit Fehlermöglichkeiten. Weiterhin werden die aufzutrennenden Proben durch den Elutionsvorgang sehr stark verdünnt (Auftragevolumen : 2 ml; Elutionsvolumen : ca. 130 ml; Verdünnung 1 : 65), so daß nur besonders hohe Konzentrationen von PTH-Fragmenten meßbar erscheinen. Dieses Problem versuchten wir in Vorversuchen so zu lösen, daß alle Eluate á 3 ml gefriergetrocknet und anschließend konzentriert resuspendiert wurden. Dieses Vorgehen brachte jedoch keine Vorteile, sondern ließ die so erhaltenen Ergebnisse ungenau und wenig präzise erscheinen. Daher wurde von dieser Methode Abstand genommen.

Die unter 2.2.2 beschriebene Methode muß somit als Kompromiß und darf nicht als optimale Methode verstanden werden.

4.2 Ergebnisse

4.2.1 Basalwerte

In den Seren des zur Verfügung stehenden Patientengutes wurden die PTH-Bestimmungen (Basalwerte) mit heterologen Testsystemen durchgeführt, die vorwiegend intaktes Hormon (S 478), mittelregionale Fragmente sowie intaktes Hormon (S 469, S 22) messen, sowie mit den homologen Fragmentassay AS(44-68)hPTH (mittelregionale Fragmente) und AS(1-34)hPTH (N-terminale Fragmente). Die in den Tabellen 1a-c und 2a-d aufgeführten Ergebnisse lassen erkennen, daß sich mit den unterschiedlichen Assaysystemen zwar keine identischen, aber eng korrelierende PTH-Werte messen lassen. So konnten die höchsten Korrelationskoeffizienten

zwischen den Systemen erzielt werden, die nach unseren Erkenntnissen auch das intakte PTH mitmessen, d.h. zwischen den Testsystemen S 22, S 469 und S 478.

Betrachtet man die Untergruppen des Patientengutes der Med. Kliniken A und C (primäre HPT; praeterminale NI; terminale NI mit den Therapieformen Hämodialyse, Hämofiltration, CAPD und Nierentransplantation), so lassen sich zwischen den unterschiedlichen Gruppen keine generellen Unterschiede feststellen, da in allen Untergruppen deutlich erhöhte PTH-Werte mit den verschiedenen Testsystemen gemessen werden können. Eine Ausnahme bildet hier die Gruppe der Nierentransplantierten, die bei allen untersuchten Patienten in allen fünf Testsystemen niedrige PTH-Werte aufweist. Bei diesen Patienten, die insgesamt einen langjährigen komplikationslosen postoperativen Verlauf zwischen 7 Monaten und 5 1/2 Jahren zeigten, liegen die Laborparameter Calcium, anorg. Phosphat, die alk. Phosphatase und die Kreatininwerte im Normbereich. Nach erfolgreicher Nierentransplantation sind bei intakter Nierenfunktion also auch die Parameter des Calciumstoffwechsels inklusive der Parathormonkonzentration normal.

Von besonderem Interesse sind sicherlich die vor und nach einer Hämodialyse bzw. Hämofiltration (Tab. 1a) durchgeführten PTH-Bestimmungen. Die Ergebnisse bestätigen den von Hehrmann, 1981, beschriebenen Effekt, wonach die Plasma-PTH-Konzentration während einer Hämodialyse nur gering abnimmt, in allen Testsystemen, die im Rahmen dieser Arbeit eingesetzt wurden. Im Gegensatz zur Hämodialyse werden durch die Hämofiltration erhebliche Mengen immunreaktiven PTH's aus dem Serum eliminiert und im Ultrafiltrat meßbar.

4.2.2 Korrelation der PTH-Basalwerte mit laborchemischen, röntgenologischen und klinischen Daten sowie medikamentöser Aluminiumhydroxydtherapie

Im Mittelpunkt der vorliegenden Untersuchungen steht die Korrelation der gemessenen PTH-Basalwerte zu solchen laborchemischen, röntgenologischen und klinischen Daten, die Hinweise auf den Ausprägungsgrad der renalen Osteopathie des Patienten geben.

(a) Mit der Produkt-Moment-Korrelation zwischen den verschiedenen PTH-Meßwerten und den einzelnen Laborparametern (Calcium, anorg. Phosphat und alk. Phosphatase) konnte nur in Ausnahmefällen eine signifikante Korrelation gefunden werden. Durch die Bildung von Untergruppen, die sich an der Höhe der Calcium-, anorg. Phosphat- und alk. Phosphatase-Serumspiegel orientierte und so zu Untergruppen mit "niedrigen", "mittleren" und "hohen" Serumwerten führten, konnten Vergleiche zu den entsprechenden PTH-Mittelwerten in diesen Untergruppen gezogen werden. Danach zeigen die PTH-Werte weder mit dem Calcium noch mit der alk. Phosphatase einen erkennbaren Zusammenhang. Der Vergleich von PTH- und anorg. Phosphatwerten läßt dagegen eine statistisch signifikante Zunahme der PTH-Mittelwerte zwischen den Untergruppen mit normalen (bis 1,5 mmol/l) und leicht erhöhten (1,5 - 2,5 mmol/l) Phosphatwerten erkennen. Dieses Resultat entspricht den von Offermann et al., 1976, berichteten Ergebnissen, wonach bei 32 Patienten mit renaler Osteopathie nur zwischen immunreaktivem PTH und dem Serumphosphat, nicht aber mit Calcium und der alk. Phosphatase, eine statistische signifikante Korrelation bestand. Die PTH-Bestimmung erfolte in dieser Arbeit mit einem Antikörper (CH 14 M von C.D. Arnaud), mit dem intaktes PTH und N-terminale Fragmente gemessen werden können.

(b) Auch für eine Korrelationsberechnung zwischen den Laborparametern (Calcium, anorg. Phosphat, alk. Phosphatase und PTH) und den röntgenologischen Befunden war es notwendig, die Patienten nach unterschiedlichem Schweregrad der röntgenologischen Veränderungen in vier Gruppen einzuteilen. Bei der Einteilung orientierten wir uns an den von Freyschmidt und Hehrmann (1978) beschriebenen typischen röntgenologischen Veränderungen beim primären HPT, die denen beim renalen HPT grundsätzlich ähnlich sind. Entsprechend dieser Einteilung wurden für jede Röntgengruppe die Mittelwerte der Laborparameter gebildet und untereinander verglichen. Allein für die Laborparametermittelwerte des Calciums und der alk. Phosphatase bestehen signifikante Unterschiede zwischen den Röntgengruppen O ohne pathologische Zeichen und der Röntgengruppe 3 mit massiven röntgenologischen Veränderungen im Sinne einer renalen Osteopathie. Auf eine Korrelation zwischen PTH und der Beckenkammhistologie mußte verzichtet werden, da die Zahl der zur Verfügung stehenden Histologiebefunde zu gering war. Zur Vervollständigung sei daher auf die Literatur verwiesen. Offermann zeigte in einer 1979 veröffentlichten Studie an 145 Patienten mit renaler Osteopathie, daß ein relativ guter Zusammenhang zwischen immunreaktivem PTH und der Knochenhistologie bei renaler Osteopathie besteht. Bei ähnlichen Untersuchungen an chronisch hämodialysierten Patienten fanden Marosi und Mitarbeiter 1982 eine positive Korrelation zwischen einem Patientenkollektiv mit PTH-Werten, die oberhalb des doppelten Normbereichs lagen, und den entsprechenden alk. Phosphatasewerten. Ebenso konnte zwischen dem Ausprägungsgrad szintigrafischer Knochenveränderungen und dem PTH eine signifikante Korrelation gefunden werden.

(c) Die Problematik bei der Korrelation zwischen PTH-Werten und dem klinischen Status der Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz und Hämodialysetherapie (Patientengut : Dialyseinstitut) liegt naturgemäß darin, daß solch eine Beurteilung nur unter subjektiven Gesichtspunkten erfolgen kann. Die Einteilung der Patienten nach einem von der EDTA erstellten klinischen Index für Nierentransplantierte (siehe 3.4) wurde von Herrn Dr. Saueressig, Düsseldorf, durchgeführt. Mit Hilfe eines X^2-Testes konnte für jedes PTH-Assaysystem die Unabhängigkeit zwischen den Merkmalen "PTH-Basalwert" und "klinischer Status" gezeigt werden, was allerdings auch schon aus der prozentualen Auswertung der Kontingenztafeln deutlich wird. 68,6 % des untersuchten Patientengutes ist auf Grund seines Gesundheitszustandes arbeitsfähig, 44,3 % sind berufstätig und nur 31,4 % arbeitsunfähig. Im Gegensatz dazu sind die PTH-Basalwerte im Testsystem AS(44-68) zu 98,6 %, mit AS(1-34) zu 70 % und mit S 22 zu 48,6 % den PTH-Gruppen II und III zuzuordnen, d.h. die PTH-Werte sind zum überwiegenden Teil mäßig bis stark überhöht.

(d) Auf Grund seiner phosphatbindenden Eigenschaft gehört Aluminiumhydroxyd ($Al(OH)_3$) seit Anfang der 60er Jahre zur Basistherapie bei der Hämodialysebehandlung. In den letzten Jahren wird von verschiedenen Autoren das Krankheitsbild der Dialyseenzephalopathie beschrieben (Übersicht in Pogglitsch et al., 1980). Zwar ist die Pathogenese dieses Krankheitsbildes noch ungeklärt, doch zeigen Untersuchungen von Pogglitsch, daß ein möglicher Zusammenhang zwischen einer kumulativen Aluminiumspeicherung bei Niereninsuffizienz, bedingt durch eine hohe Dosierung von $Al(OH)_3$, die heute durchschnittlich bei 6-12 g/die liegt, und durch die Ver-

wendung aluminiumhaltigendem Dialysats, und dem Auftreten zerebraler Störungen besteht. Pogglitsch (1981) konnte weiterhin zeigen, daß nach einer drastischen Reduktion der $Al(OH)_3$-Dosis keine weiteren Fälle von Dialyseenzephalopathie in seinem Patientengut auftraten. Gleichzeitig blieb bei dieser Dosierung das Serumphosphat unverändert, und der Parathormonspiegel stieg an. Inwieweit innerhalb unseres Patientengutes (Dialyseinstitut) eine Abhängigkeit zwischen der $Al(OH)_3$-Dosis und den PTH-Basalwerten besteht, wurde mit dem X^2-Test untersucht. Hierbei zeigt sich, daß in keinem Fall eine Abhängigkeit nachzuweisen ist, unabhängig von der Wahl des PTH-Testsystems. Es stellt sich jedoch die Frage, ob solche Untersuchungen nicht idealer Weise an Einzelverläufen kontrolliert werden sollten, da dann die im Gesamtkollektiv nicht zu berücksichtigenden Variablen wie z.B. die Compliance bei der Tabletteneinnahme und die unterschiedliche Resorbierbarkeit der unterschiedlichen $Al(OH)_3$-Präparate bei physiologischen pH-Werten (Pogglitsch et al., 1980), d.h. die effektive Plasmaaluminiumkonzentration, besser einzuschätzen sind.

An dieser Stelle ist es sicherlich notwendig, die Aussagekraft der mittels Korrelations- und Unabhängigkeitstests erzielten Ergebnisse zu diskutieren. Die Hauptproblematik der voranstehenden Untersuchungen liegt in der Heterogenität des Patientengutes. Hierbei müssen neben den verschiedenen untersuchten Krankheitsbildern und Therapieformen bei terminaler Niereninsuffizienz in erster Linie die individuell verschiedenen Krankheitsverläufe beachtet werden, d.h. die zu korrelierenden klinischen Befunde setzen sich bei jedem Individuum aus einer Vielzahl von Faktoren, wie z.B. Krankheits- und Dialysedauer, Unterschiede in der medikamentösen Therapie ($Al(OH)_3$, Calcitriol, Dihydrotachysterol) und Begleit- bzw. Sekundärerkrankungen zusammen.

Da das Korrelationsäquavalent der klinischen Befunde ein Hormon ist, müssen notwendigerweise die pathophysiologischen hormonellen Regulationsvorgänge berücksichtigt werden. Es ist zu erwarten, daß je nach Dauer und Schwere der Primärerkrankung die sekundäre hormonelle Adaption unterschiedlich ausgeprägt ist.

Auf Grund der im Rahmen dieser Arbeit gewonnenen Erkenntnis muß daher gesagt werden, daß die PTH-Bestimmung allein kein brauchbarer Parameter zur Einschätzung der renalen Osteopathie bzw. eines renal bedingten HPT ist. Das ist allenfalls bei individuellen Verlaufsbeobachtungen zu erwarten. Auch der Einsatz des homologen N-terminalen (1-34)hPTH-Assays, mit dem das biologisch aktive (1-34)-Fragment gemessen werden kann, brachte keine aufschlußreicheren Ergebnisse im Vergleich zu den üblich angewendeten mittelregionalen- und C-terminalen Assays. Ob neuere N-terminale Assays mit hoher Empfindlichkeit (Manning et al., 1980) allein in der Lage sind, klinisch relevante PTH-Meßwerte bei Niereninsuffizienz zu liefern, kann derzeit nicht endgültig beurteilt werden.

4.2.3 Säulenchromatographie

Die chromatographische Auftrennung von Patientenserum und die PTH-Bestimmung in den Eluatfraktionen mit dem Ziel, quantitative Angaben über die Anteile von intaktem Hormon bzw. N-terminalem, d.h. biologisch aktivem PTH und von biologisch inaktiven mittelregionalen bzw. C-terminalen Fragmenten zu machen, brachte keine zufriedenstellenden Ergebnisse. Die experimentelle Problematik und die im Rahmen dieser Arbeit notwendigen Kompromisse sind im Kapitel 3.6.1 besprochen worden.

Mit dem N-terminalen Assay, der wie oben beschrieben nur höhere PTH-Konzentrationen relativ sicher mißt, können die im Eluat stark verdünnten PTH-Fragmente auch bei hohem PTH-Basalwert praktisch nicht mehr gemessen werden. Mit den beiden Testsystemen S 22 und AS(44-68) können nahezu identische Ergebnisse erzielt werden. Beide Systeme messen allerdings nur die großmolekularen PTH-Fragmente zwischen 9500 und 4000 Dalton. Patienten mit Niereninsuffizienz weisen dabei einen breiteren Fragmentpeak auf als Patienten mit primären HPT.

Eine erkennbare chromatographische Auftrennung in biologisch aktive und inaktive Hormonanteile kann in unseren Untersuchungen nicht erhalten werden. Zur Identifizierung der biologisch aktiven N-terminalen Fragmente in den Eluatfraktionen können eventuell noch empfindlichere Assay dienen, die in der Literatur beschrieben sind (Manning et al., 1980).

4.2.4 Nierentransplantation - perioperativer Verlauf

In Anlehnung an eine von Hehrmann und Mitarbeiter, 1980 veröffentlichte Arbeit, in der u.a. über den perioperativen Plasma-Parathormonverlauf nach Nierentransplantation berichtet wird, wurden zehn Patienten untersucht. Während die dort untersuchten PTH-Werte im Assaysystem S 469 gemessen wurden, konnten hier zusätzliche Messungen mit S 22,AS(1-34) und AS(44-68) durchgeführt werden und mit dem Verlauf der Kreatininwerte, als Parameter der Nierenfunktion, verglichen werden.

Wie schon von Hehrmann und Mitarbeitern beschrieben, war es nicht sinnvoll, das Patientengut pauschal zu beurteilen, da die Transplantatfunktion der einzelnen Patienten zu

unterschiedlich war. So wurde eine Untergruppe (A) gebildet, deren Patienten in den ersten zehn postoperativen Tagen keine ausreichende Transplantatfunktion aufwiesen. Für diese Patienten läßt sich in diesem Zeitraum weder eine Normalisierung der Kreatinin- noch der PTH-Werte feststellen, sondern ist in den Systemen AS(1-34) und AS(44-68) sogar ein Anstieg des PTH's über den praeoperativen Ausgangswert hinaus meßbar.

Die andere Untergruppe (B) bestand aus Patienten mit sofortiger Transplantatfunktion, was sehr deutlich an der Normalisierung der Kratininwerte innerhalb der ersten zehn postoperativen Tage zu verfolgen ist. Fast parallel dazu ist eine rapide Abnahme der PTH-Werte in allen vier Testsystemen zu beobachten.

Die von Hehrmann und Mitarbeitern beschriebene Normalisierung der PTH-Werte bei sofortiger Transplantatfunktion innerhalb von drei Tagen bei einem Teilkollektiv kann in unseren Beispielen jedoch nicht gezeigt werden. Nach zehn postoperativen Tagen lagen die Meßwerte nur mit AS(1-34) gemessen im Normbereich, während mit den anderen Testsystemen zwar zu den Ausgangswerten deutlich erniedrigte, aber noch über den Normbereich hinaus mäßig erhöhte PTH-Konzentrationen meßbar waren. Unabhängig von der Transplantatfunktion brachte die Beobachtung der Einzelverläufe interessante Ergebnisse hinsichtlich der in den unterschiedlichen Testsystemen gemessenen PTH-Verläufe.

Die mit den Testsystemen S 22 und S 469 gemessenen "intakten" PTH-Anteile korrelieren sehr eng miteinander und ihre Verlaufskurven laufen nahezu parallel zu der Kreatininkurve. Daß es sich hierbei vor allem um die intakten PTH-Anteile handeln muß - S 22 und S 469 haben beide eine hohe Affinität zu dem mittelregionalen (44-68)-Fragment - zeigen die Untersuchungen im spezifischen AS(44-68)PTH-Fragmentassay.

Die Normalisierungstendenz der mit S 22 und S 469 gemessenen "intakten" - kurzlebigen-PTH-Werte beginnt zwischen dem 1. und 3. postoperativen Tag, was der Normalisierung der Kreatininwerte entspricht. Dagegen fallen die mit AS(44-68) gemessenen PTH-Werte erst zwischen dem 5. und 10. Tag und somit später als das Kreatinin.

Verlaufskontrollen mit dem N-terminalen Assay erscheinen nach den hier durchgeführten Untersuchungen ungeeignet, da schon die praeoperativen Ausgangswerte sehr niedrig lagen.

Aus den Ergebnissen läßt sich erkennen, daß die perioperative PTH-Verlaufskontrolle ein durchaus empfindlicher Parameter für die Nierentransplantatfunktion ist. Hierfür erscheinen uns vor allem solche Assay nützlich, mit denen das intakte Molekül meßbar ist, während die Bestimmung der langlebigen mittelkettigen Fragmente auf Grund ihrer verzögerten Normalisierung weniger geeignet ist.

5. Zusammenfassung

Der Einsatz unterschiedlicher Parathormon-Radioimmunoassays ermöglichte die Bestimmung von intaktem Parathormon, sowie N-terminalen (1-34), mittelregionalen (44-68) und C-terminalen Parathormonfragmenten im Serum von Patienten mit praeterminaler Niereninsuffizienz, terminaler Niereninsuffizienz unter verschiedenen Therapieformen (Hämodialyse, Hämofiltration, CAPD, Nierentransplantation) und primären Hyperparathyreoidismus.

Eine mit anderen Proteohormonassays vergleichbare Präzision und Empfindlichkeit wiesen die Assays S 22 (intaktes PTH und mittelregionale PTH-Fragmente) und AS(44-68) (mittelregionale PTH-Fragmente) auf. Die Assaystatistik für den N-terminalen (1-34)PTH-Assay zeigte eine schlechtere Präzision und größere Streuung.

Der Vergleich der in den unterschiedlichen Assaysystemen gemessenen PTH-Basalwerte ließ eine statistisch signifikante positive Korrelation zwischen den Basalwerten in den verschiedenen Assaysystemen erkennen. Die höchsten Korrelationskoeffizienten konnten zwischen den Systemen gefunden werden, die nach unserer Erkenntnis auch das intakte Parathormon mitmessen.

Die Korrelation der PTH-Basalwerte zu klinischen Befunden zeigte nur zum Serumphosphat eine positive Signifikanz, während zur Calcium- und alk. Phosphatasekonzentration bzw. -aktivität und den röntgenologischen Befunden keine signifikante Korrelation meßbar waren. Ebensowenig konnte eine Abhängigkeit der PTH-Basalwerte zu einem "klinischen Status" bzw. der Aluminiumhydroxyddosierung bei chronischen Hämodialysepatienten nachgewiesen werden.

Mit Ausnahme nierentransplantierter Patienten, deren PTH-Werte im Normbereich lagen, wiesen alle anderen terminal niereninsuffizienten Patienten unter Hämodialyse-, Hämofiltration- oder CAPD-Therapie in allen Testsystemen erhöhte PTH-Werte auf.

Diese Ergebnisse lassen erkennen, daß die PTH-Bestimmung allein kein brauchbarer Parameter zur Verlaufskontrolle einer renalen Osteopathie bzw. eines renal bedingten sekundären Hyperparathyreoidismus ist, sondern daß hierfür auch klinische, laborchemische, röntgenologische und gegebenenfalls histologische Befunde benötigt werden.

Für perioperative Verlaufskontrollen bei Nierentransplantationen erwies sich die PTH-Bestimmung vor allem in den Assaysystemen als empfindlicher Parameter, mit denen intaktes Hormon meßbar war.

Abkürzungen

A C G	Acromioclaviculargelenk
a P	alkalische Phosphatase
AS (1-34) AS (44-68)	spezifische, homologe Assay-Systeme gegen die PTH-Fragmente (1-34)hPTH bzw. (44-68)hPTH
B	gebundenes Antigen
B_o	maximale Bindung
c A M P	cyclo - Adenosin - 3,5 - monophosphat
C A P D	chronisch ambulante Peritonealdialyse
c p m	counts pro minute
C - terminal	Carboxy - terminal (-COOH)
D	Dalton
F	freies Antigen
H S A	Humanserumalbumin
H P T	Hyperparathyreoidismus
I S G	Iliosakralgelenk
N I	Niereninsuffizienz
N - terminal	Amino - terminal (NH_2-)
P P	Phosphat Puffer
P T H	Parathormon
bPTH	Parathormon, Spezies: Rind
pPTH	Parathormon, Spezies: Schwein
hPTH	Parathormon, Spezies: Mensch
R I A	Radioimmunoassay
r.O.	renale Osteopathie
Rö O - 3	röntgenologische Untergruppen O,1,2,3
r p m	rounds pro minute
T x	Transplantat - nephrektomiert
U	unspezifische Bindung

Literatur

ARNAUD, C.D., H.S. TASO, T. LITTLEDIKE:

Radioimmunoassay of human parathyroid hormone in serum
J.Clin.Invest. 50 (1971) 21-34

ATKINSON, M.J., B. NIEPEL, H. JÜPPNER, P. BUTZ, M. CASARETTO, H. ZAHN, R. HEHRMANN, R.D. HESCH:

Homologous radioimmunoassay for human mid-regional parathyroid hormone
J. Endocrinol. Invest 4, (1981) 363

BERSON, S.A., R.S. YALOW, G.D. AURBACH, J.T. POTTS Jr.:

Immunoassay of bovine and human parathyroid hormone
Proc. Nat. Acad. Sci. 49 (1963) 613-617

BERSON, S.A., R.S. YALOW:

Immunochemical heterogeneity of parathyroid hormone in plasma
J. Clin. Endocrinol. Metab. 28 (1968) 1037-1047

BREWER, H.B., R. RONAN:

Bovine parathyroid hormone: Amino acid sequence
Proc. Nat. Acad. Sci.: 67 (1970) 1862-69

BRICKER, N.S.:

On the pathogenesis of the uremic state: an exposition of the "trade-off" hypothesis
N.Engl.J.Med. 286 (1972) 1093-1098

DELLING, G.:

Endokrine Osteopathien
Veröffentlichungen aus der Pathologie, Band 98
Fischer-Verlag, Stuttgart (1975)

DE LUCA, H.F.:

Vit D metabolism and function
Arch. Int. Med. 138 (1978) 836-847

DE LUCA, H.F.:

Vitamin D: Metabolism and function
Monographs on Endocrinology, Vol 13,
Springer Verlag Berlin, Heidelberg (1979)

DESPLAN, C., A. JULLIENNE, M.S. MOUKHTAR, G. MILHAUD:

Sensitive assay for biologically active fragment of human parathyroid hormone
Lancet II, (1977) 198-199

DI BELLA, F.P., J.B. GILKINSON, J. FLUECK, C.D. ARNAUD:

Carboxyl-terminal fragments of human parathyroid hormone in parathyroid tumors: unique source of immunogens for the production of antisera potentially useful in the radioimmunoassay of parathyroid hormone in human serum
J.Clin. Endocr. Metab. 46 (1978) 604-612

DIETEL, M., G. DORN, E. ALTENÄHR:

Effect of high and physiological concentrations of 1,25 DHCC on ultrastructure and secretion of human parathyroid adenomas and porcine parathyroids
Acta Endocr. (Kbh.) Suppl. 215 (1978), Abstr. 102, 109-110

DORN, G., R. MONTZ, H. MOHR, M. DIETEL:

Further characterization of the hPTH material "P_2 Hamburg"
Acta endocrionol. (Kbh.) Suppl. 225 (1979), abstfact 403

EUROPEAN PTH STUDY GROUP (EPSG)

Interlaboratory comparison of radioimmunological parathyroid hormone determination
Eur. J. Clin. Invest. 8,(1978), 149-154

FREITAG, J., K.J. MARTIN, K.A. HRUSKA, C. ANDERSON, M. CONRADES, J. LADENSON, S. KLAHR, E. SLATOPOLSKY:

Impaired parathyroid hormone metabolism in patients with chronic renal failure
N. Engl. J. Med 29 (1978) 29-33

FREYSCHMIDT, J., R. HEHRMANN:

Primärer Hyperparathyreoidismus als Differentialdiagnose von schweren Skelettdestruktionen
Röntgen-Bl. 31 (1978) 495-502

HABENER, J.F., M. ROSENBLATT, B. KEMPER, H.M. KRONENBERG, A. RICH, J.T. POTTS Jr.:

Pre-proparathyroid hormone: Amino acid sequence, chemical synthesis, and some biological studies of the precursor
Proc. Natl. Acad. Sci. 75 (1978) 2616-2620

HEHRMANN, R., E. JENTSCH, H. MAYER, R. MONTZ:

^{75}Selen-labeled human parathyroid hormone from tissue cultures
Acta Endocrinol. (Kbh.) Suppl. 173 (1973) 163

HEHRMANN, R., R. WILKE, J.P. NORDMEYER, R.D. HESCH:

Hochsensitiver, C-terminal-spezifischer Radioimmunoassay für menschliches PTH als Routinemethode
Dtsch. Med. Wschr. 101 (1976) 1726-29

HEHRMANN, R.:

Plasma Parathormon: Methodik, Pathophysiologie und Klinik
U.& S manuscript; Urban & Schwarzenberg, München 1980

HEHRMANN, R., G. TIDOW, G. OFFNER, H.P. KROHN, R. D. HESCH, R. PICHLMAYR:

Plasma-Parathormon nach Nierentransplantation: ein empfindlicher Parameter zur Beurteilung der postoperativen Transplantatfunktion
Klin. Wschr. 58, (1980) 249-258

HEHRMANN, R.:

Pathophysiologie von Parathormon-Abbau und -Exkretion bei Niereninsuffizienz
Nieren- u. Hochdruckkrankheiten 10, (1981) 154-158

HEHRMANN, R.:

Parathormon - Radioimmunoassay: Methodische Entwicklungen, klinische Indikation und Wertigkeit
Der Nuklearmediziner Nr. 3,5 (1982) 165-177

HERBERT, V., K.-S. LAU, C.W. GOTTLIEB, S.J. Bleicher:

Coated charcoal immunoassay of insulin
J. Clin. Endocrinol. Metab. 25 (1965) 1375

HESCH, R.-D., R. HEHRMANN, H. JÜPPNER, R. WILKE, K. LUSTENBERGER:

Intestinal calcium absorption, 25 OH D_3 and parathyroid hormone at different stages of renal insufficiency
Proc. Europ. Dialysis and Transplant Assoc.
Vol. XIII. Pitman Medical, London (1976) 571-585

HESCH, R.-D., R. HEHRMANN:

Diagnostische Wertigkeit von Parathormonbestimmungen
Internist 18 (1977) 544-555

HUNTER, W.M., F.C. GREENWOOD:

Preparation of iodine-131-labelled human growth hormone of high specific activity
Nature (London) 194 (1962) 495

JOHNSON, J.W., R.S. GOLDSMITH, J.W. BEABOUT, J. JOWSEY, P.J. KELLY, C.D. ARNAUD:

Prevention and reversal of progressive secondary hyperparathyroidism in patients maintained by hemodialysis
Am. J. Med. 56 (1974) 827-832

JÜPPNER, H., J. SRAER, R. ARDAILLON, H. EBEL, M. RUF, H. MOHR:

PTH receptors at different sites along the nephron
Acta Endocrinol., Suppl. 215 (1978) 105-106

KEMPER, B., J.F. HABENER, J.T. POTTS Jr., A. RICH:

Proparathyroid hormone: identification of a biosynthetic precursor to parathyroid hormone
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 69 (1972) 643

KEUTMANN, H.T., M.M. SAUER, G.N. HENDY, J.L.H.O'RIORDAN, J.T. POTTS Jr.:

Complete amino acid sequence of human prathyroid hormone
Biochemistry 17 (1978) 5723-5729

KOLLEGIUM BIOMATHEMATIK NW:

Biomathematik für Mediziner
Springer-Verlag Berlin - Heidelberg - New York (1976)

KRÖPELIN, T., H.BECHER, H. SARRE, E. VONEND

Renale Osteopathie, aus Ed.: Sarre, H.: Nierenkrankheiten
G.Thieme-Verlag Stuttgart (1977) 223-233

LUSTENBERGER, N., R. HEHRMANN, H. JÜPPNER, R.D. HESCH:

Parathyroid hormone metabolism in normal and uraemic man. Contr. Nephrol. 13 (1978), 115-124

MAROSI, L., R. DUDCZAK, J. ZAZGORNIK, P. SCHMIDT, Ch. POLLAK, E. MINAR, S. SALOMONOWITZ:

Parathormon (PTH), Calcitonin (CT), knochenszinitigraphischer und röntgenologischer Befund bei chronisch hämodialysierten Patienten (HD)
Nieren- und Hochdruckkrankheiten 11,5 (1982) 221

MANNING, R.M., G.N. HENDY, S.E. PAPAPUOLOS, J.L.H. O'RIORDAN:

Development of homologous immunological assays for human parathyroid hormone
J. Endocr. 85, (1980) 161-170

MARTIN, K., K.A. HRUSKA, A. GREENWALT, S. KLAHR, E. SLATOPOLSKY:

The renal handling of parathyroid hormone: role of peritubular uptake and glomerular filtration
J. Clin. Invest. 60 (1977) 808-814

MITTENECKER, E.:

Planung und statistische Auswertung von Experimenten
6. Auflage (1966), Verlag Franz Deuticke, Wien

NIALL, H.D., H. KEUTMANN, R. SAUER, M. HOGAN, B. DAWSON, G.D. AURBACH, J.T. POTTS Jr.:

The amino acid sequence of bovine parathyroid hormone
I. Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem. 351 (1970) 1586

OFFERMANN, G., K. SCHAEFER, A. SCHULZ, G. DELLING:

Immunoreaktives Parathormon, 25-Hydroxycalciferol und Knochenhistologie bei renaler Osteopathie
Klin.Wschr. 54 (1976) 625-632

OFFERMANN, G.:

Bedeutung der Bestimmung von Parathormonpeptiden zur Charakterisierung der renalen Osteopathie
in: Renale Osteopathie, Ed.: HESCH, R.-D., R. HEHRMANN, J.P. NORDMEYER
G. Thieme-Verlag Stuttgart (1979) 59-68

OLDHAM, S.B., E.J. FINCK, F.R. SINGER:

Parathyroid hormone clearance in man
Metabolism 27, (1978) 993-1001

PARSONS, J.A., R.M. NEER, J.T. POTTS Jr.:

Initial fall of plasma calcium after intravenous injection of parathyroid hormone
Endocrinology 89 (1971) 735-740

PAYNE, R.B.:

The application of standard deviation calculated from successive duplicates to quality control data
Clin. Chim. Acta 42 (1972) 263

POGGLITSCH, H., O. WAWSCHINEK, H. HOLZER, W. PETEK, H. KATSCHNIG, G. LADURNER:

Beziehung zwischen Plasmaaluminium, peroraler Aluminiumhydroxydaufnahme und Enzephalopathiesymptomen bei Dauerdialysepatienten
Nieren- und Hochdruckkrankheiten 9,6 (1980) 284-289

POGGLITSCH, H.:

Therapie mit aluminiumhaltigen Substanzen in der Nephrologie
Nieren- und Hochdruckkrankheiten 10,5 (1981) 210-216

RITZ, E., J. BOMMER, W. KREUSSER, H. SCHMIDT-GAYK:

Probleme der Pathogenese der renalen Osteopathie in: HESCH, R.D., R. HEHRMANN, Eds.: Renale Osteopathie
G. Thieme-Verlag Stuttgart (1979) 1-22

SHERWOOD, L.M., M. ABE:

Magnesium ion, parathyroid hormone secretion and cyclic 3', 5'-AMP.
Clin.Res. 20 (1972) 756

SILVERMAN, R., R.S. YALOW:

Heterogeneity of parathyroid hormone: clinical and physiologic implications
J. Clin. Invest. 52 (1973) 1958-71.

TREGEAR, G.W., H. VAN RIETSCHOTEN, E. GREEN, H.T. KEUTMANN, H.D. NIALL, B. REIT, J.A. PARSONS, J.T. POTTS Jr.:

Bovine Parathyroid Hormone: Minimum chain length of synthetic peptide required for biological activity
Endocrinology 93 (1973) 1349-1353

WASSERMANN, R.H., A.N. TAYLOR:

Vit D dependent calcium binding protein: Response to some physiological and nutritional variables
J. Biol. Chem. 243 (1968) 3978-86

WILKE, R., J. HARMEYER, R. HEHRMANN:

Regulatory hyperparathyroidism in a pig breed with pseudo-vit D-deficiency
5.Int. Congress Endocrinology, Hamburg (1976) abstract 712

WOODHEAD, J.S., J.L.H. O'RIORDAN, H.T. KEUTMANN, M.L. STOLTZ, B.F. DAWSON, H.D. NIALL, C.D. ROBINSON, POTTS Jr.:
Isolation and chemical properties of porcine parathyroid hormone
Biochemistry 10 (1971) 2787-2792

ZANELLI, J.M., B. RAFFERTY:

An homologous and sensitive radioimmunoassay for the synthetic amino-terminal (1-34) fragment of human parathyroid hormone: application to the clearance of this peptide administered in vivo
J. Immunoassay 1, (1980) 289-308

Lebenslauf:

Persönliche Daten:

Hanns Jürg Sachse
geboren am 16.04.52 in Leipzig
Nationalität: deutsch
Familienstand: ledig

Eltern: Dr.med. Johannes Sachse
Christa-Maria Sachse, geb. Börstinger

Ausbildung:

1959 - 1963	Volksschulen in Halle a.d. Saale, Innien (Krs. Rendsburg), Lüdenscheid und Duisburg
1963 - 1972	Mercator-Gymnasium Duisburg Abschluß mit Abitur
WS 72/73 - WS 77/78	Studium der Chemie an der Ruhr-Universität Bochum Studienabschluß: Diplom-Chemiker
ab SS 1978	Studium der Medizin an den Medizinischen Einrichtungen der Universität Düsseldorf
August 1979	Ärztliche Vorprüfung
August 1980	1. Ärztliche Prüfung
August 1982	2. Ärztliche Prüfung
seit Oktober 1982	Praktisches Jahr am Evangelischen Krankenhaus in Mülheim a.d. Ruhr

Düsseldorf, 1.7.1983 Hanns Jürg Sachse